

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Paulo E. de BERRÊDO CARNEIRO

- 1^{re} THÈSE. — LE GUARANA ET PAULLINIA CUPANA H. B. & K.
CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PLANTES A CAFÉINE.
- 2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.
-

Soutenues le 23 Mai 1934, devant la Commission d'examen

Président : M. G. BERTRAND.

Examineurs : { M. MOUTON.
 { M. COMBES.

PARIS
IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS
15, RUE RACINE, 15

1934

SÉRIE A, n° 218
N° D'ORDRE : 242

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Paulo E. de BERRÊDO CARNEIRO

1^{re} THÈSE. — LE GUARANA ET PAULLINIA CUPANA H. B. & K.
CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PLANTES A CAFÉINE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le Mai 1931, devant la Commission d'examen

Président : M. G. BERTRAND.

Examineurs : { M. MOUTON.
 { M. COMBES.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

—
1931

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyen honoraire M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires. }
 H. LE CHATELIER.
 H. LEBESGUE
 A. FERNBACH.
 A. LEDUC.
 E. HÉROUARD.

EMILE PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
 E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
 G. KENIGS Mécanique physique et expérimentale.
 P. JANET Electrotechnique générale.
 F. WALLERANT Minéralogie.
 P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
 M. CAULLERY Zoologie (Evolution des êtres organisés).
 Emile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
 H. ABRAHAM Physique.
 M. MOLLIARD Physiologie végétale.
 E. CARTAN Géométrie supérieure.
 Gabriel BERTRAND. Chimie biologique.
 Jean PERRIN Chimie physique
 L. LAPICQUE Physiologie générale.
 Mme P. CURIE .. Physique générale et radioactivité.
 G. URBAIN Chimie générale.
 L. MARCHIS Aviation.
 E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des trans-
 formations.

Professeurs }
 A. COTTON Physique générale.
 J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
 Charles FABRY .. Physique.
 R. LESPIEAU Théories chimiques.
 P. PORTIER Physiologie comparée.
 Charles PÉREZ .. Zoologie.
 E. BLAISE Chimie organique
 P.-A. DANGEARD .. Botanique.
 Rémy PERRIER .. Zoologie (Enseignement P. C. N.).
 Léon BERTRAND .. Géologie structurale et géologie appliquée.
 E. RABAUD Biologie expérimentale.
 G. JULIA Mathématiques générales.
 Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
 V. AUGER Chimie appliquée.
 P. WINTREBERT .. Anatomie et histologie comparées.
 O. DUBOSQ Biologie maritime.
 Eugène BLOCH .. Physique théorique et physique céleste.
 A. MAILHE Etude des combustibles.
 L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
 Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
 Ch. JACOB Géologie.
 P. PASCAL Chimie minérale.
 Léon BRILLOUIN .. Théories physiques.
 E. ESCLANGON Astronomie.
 H. BÉNARD Mécanique expérimentale des fluides.
 MAUGUIN Minéralogie.
 L. BLARINGHEM .. Botanique.



E. PÉCHARD Chimie (Enseig. P.C.N.)
 A. GUILLET Physique.
 M. GUICHARD Chimie minérale.
 A. MICHEL-LÉVY .. Pétrographie.
 A. DEREIMS Géologie.
 A. DENJOY Calcul différentiel et
 intégral.
 H. MOUTON Chimie physique.
 A. DUFOUR Physique (P.C.N.)
 L. DUNOYER Optique appliquée.
 M. JAVILLIER Chimie biologique.
 ROBERT-LÉVY Zoologie.
 A. DEBIERNE Radioactivité.
 E. DARMOIS Physique.
 G. BRUHAT Physique.
 A. GUILLIERMOND .. Botanique (P.C.N.).
 F. PICARD Zoologie (Evolution des
 êtres organisés).

L. JOLEAUD Paléontologie.
 M. FRÉCHET Calcul des Probabilités
 et Physiques mathém.
 Mme RAMART-LUCAS .. Chimie organique.
 BÉGHIN Mécanique théorique des
 fluides.
 FOCH Mécanique expérien-
 tale des fluides.
 PAUTHENIER Physique (P.C.N.)
 VILLEY Mécanique physique et
 expérimentale.
 De BROGLIE Théories physiques.
 LABROUSTE Physique du Globe.
 FREUNDLER Chimie (P.C.N.).
 PRENANT Zoologie.
 P. JOB Chimie générale.
 CHRÉTIEN Optique appliquée.

Secrétaire A. PACAUD.

A MONSIEUR LE DOCTEUR E. ROUX
Membre de l'Institut
Membre de l'Académie de Médecine
Directeur de l'Institut Pasteur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GABRIEL BERTRAND
Membre de l'Institut
Professeur à la Faculté des Sciences
Chef de Service à l'Institut Pasteur

Hommage de reconnaissance.

A MON CHER MAÎTRE
MONSIEUR LE DOCTEUR C. E. J. LOHMANN
Professeur de Chimie Générale
à l'Ecole Polytechnique de Rio de Janeiro.

A MON EXCELLENT AMI
FRANCISCO VENANCIO FILHO

*En témoignage d'admiration et de
gratitude.*

LE GUARANA ET PAULLINIA CUPANA H. B. & K.

Contribution à l'étude des plantes à caféine

INTRODUCTION

Les plantes à caféïne présentent un intérêt de plus en plus vif. En effet, soit du point de vue de l'économie sociale, soit du point de vue de la biochimie pure, leur importance est toujours grandissante. Sous le premier aspect, elles représentent une immense richesse qui, dans plusieurs pays, est la base même de l'existence collective; sous le second, moins visible, mais non moins appréciable, elles constituent un domaine de recherches susceptibles d'apporter d'utiles lumières à différents problèmes physiologiques.

Suivant la judicieuse remarque de Liebig, un irrésistible attrait a partout conduit l'homme primitif à employer dans son alimentation des produits naturels à base de caféïne. Des végétaux très divers ont été sélectionnés dans ce but, dans les différentes régions du globe, à la suite, certainement, de longues et obscures observations sur leurs propriétés excitantes. C'est ainsi que les peuplades nègres des pla-

teaux de l'Abyssinie, et de l'Ouest Africain, découvrirent le café et la noix de kola; les peuples primitifs de l'Orient découvrirent le thé, et les tribus d'Indiens d'Amérique, le cacao, le guarana, le maté et le yocoo.

Les plantes à caféine n'ont été introduites en Europe qu'au début du ^{xvii}^e siècle, mais leur usage s'est immédiatement répandu avec une prodigieuse rapidité. Leur culture fut, en même temps, essayée dans les régions les plus variées, et bientôt ces plantes furent l'objet de grandes entreprises agricoles et manufacturières. A cette époque d'industrie rudimentaire et d'échanges commerciaux restreints, le café et le thé ont exercé une influence considérable sur l'essor économique de divers pays. Le thé de la Chine et de l'Inde, transporté et acclimaté dans leurs colonies par les Hollandais, ne tarda pas à devenir un élément de commerce que ceux-ci surent habilement développer. Les Français en firent autant avec le café, transplanté d'Arabie dans leurs possessions d'outre-mer. Pendant longtemps celles-ci lui ont été redevables de leur prospérité. Ce serait un chapitre d'histoire politique et économique des plus intéressants à écrire, que celui des mouvements migratoires, des rapprochements internationaux, des nombreuses entreprises de navigation, issus, il y a trois siècles, de la culture et du commerce de ces produits.

Mais c'est surtout en Amérique que les plantes à caféine étaient destinées à jouer un rôle considérable. A l'aide de conditions climatiques favorables,

et d'une main-d'œuvre que l'esclavage des nègres rendait presque gratuite, leur culture y prit un développement vertigineux. Le Brésil, pays d'origine du cacao, du maté et du guarana, est devenu bientôt l'*habitat* d'élection du café, et aujourd'hui, plus de deux tiers des drogues à caféine consommées dans le monde proviennent de ses plantations. Le maté, dans le sud, le café, dans les Etats de Minas Geraes, de Rio de Janeiro, de Sao Paulo, de Espirito Santo et de Bahia, le cacao, à Bahia, le guarana, dans l'extrême nord, se partagent son immense superficie. Et la vie du pays tout entier repose, presque exclusivement, sur le commerce de ces drogues euphoriques.

Cet exemple est bien propre à mettre en relief l'importance économique et politique graduellement acquise par les plantes à caféine. Les données statistiques de leur consommation annuelle, dans le monde, confirment d'ailleurs, sous tous les rapports, ce fait irrécusable ⁽¹⁾.

Du point de vue purement scientifique des raisons non moins fortes militent en faveur de l'étude systématique de ce groupe de plantes. D'une façon générale, d'ailleurs, toutes les classes de végétaux doivent être l'objet de recherches biochimiques poursuivies. L'organisme végétal est, en effet, plus propre que tout autre à l'étude des principaux phénomènes de la vie organique, non seulement parce qu'on peut les y observer dans des circonstances plus simples, mais

(1) Production mondiale en tonnes : Café : 1.900.000; Cacao : 547.000; Thé : 435.000; Maté : 200.000; Kola : 20.000; etc., etc.

encore parce qu'ils s'y manifestent avec plus d'intensité. Ainsi, selon la belle remarque d'Auguste Comte, les lois fondamentales de la nutrition, par exemple, pourront être mieux dévoilées dans les plantes que partout ailleurs, car c'est dans l'acte de l'assimilation végétale que la matière brute passe réellement à l'état organisé ; toutes les transformations ultérieures qu'elle peut éprouver de la part de l'organisme animal sont bien moins tranchées. Les résultats obtenus dans de telles recherches serviront ensuite à éclaircir l'étude de l'homme et des animaux. Un seul exemple, que nous puisons dans les travaux de G. Bertrand, suffit à illustrer cette thèse. La découverte des oxydases, et de leur rôle biologique, faite au cours de recherches sur l'arbre à laque, est venue jeter une profonde lumière sur un ensemble de questions biologiques communes à tous les êtres vivants.

Les plantes à caféïne nous paraissent susceptibles de fournir des renseignements non moins importants en ce qui concerne, par exemple, le métabolisme des bases xanthiques. Le jour où l'on aura établi les conditions biochimiques précises qui régissent l'apparition et les transformations de la caféïne et de la théobromine dans les organes végétaux, un grand pas aura été certainement fait pour résoudre le problème si complexe de la formation de l'acide urique dans l'organisme animal.

Bien d'autres rapprochements pourraient être faits sur lesquels, cependant, nous ne nous appesantirons pas. Nous avons seulement voulu signaler com-

ment la chimie biologique, sous une apparente dispersion analytique, poursuit, au fond, un grand effort de synthèse.

Dans l'espoir d'apporter une contribution, si faible soit-elle, à la connaissance des plantes à caféïne, nous avons choisi comme sujet d'étude celle qui jusqu'ici est la moins connue : *Paullinia Cupana* H. B. & K. Nous avons fait en même temps, une révision de la composition chimique de la pâte fabriquée avec ses graines par les Indiens de l'Amazone (guarana).

Cette thèse comprend trois parties :

Dans la première nous donnons la description botanique de *P. Cupana* et nous passons en revue l'ensemble de nos connaissances sur la pâte de guarana : sa préparation, ses usages, sa composition. Nous nous y attachons particulièrement à donner un aperçu exact des nombreux mémoires parus depuis 1817 sur la constitution chimique de cette drogue.

Dans la deuxième partie nous exposons nos recherches sur la composition de la pâte de guarana en principes actifs. Après une étude comparative des méthodes de dosage de la caféïne, nous reproduisons les résultats de nos déterminations sur la pâte de fabrication indigène et sur la pâte de fabrication industrielle. Nous donnons ensuite un résumé des recherches que nous avons faites sur la présence éventuelle d'autres alcaloïdes, et notamment de la *B. guaranine*, de Nierenstein, et d'une base, analogue à la morphine, signalée par Schär et par Thoms.

Dans la troisième partie nous exposons, d'abord, nos recherches sur les bases organiques présentes dans les diverses parties de *P. Cupana*. Nous identifions ensuite la caféine et la théobromine d'après des analyses élémentaires, des déterminations de poids moléculaires, et des dosages de méthyl-imide; nous passons rapidement en revue une partie de nos recherches sur le « rouge de guarana », en soulignant ses analogies avec le « rouge de kola » et le « rouge de cacao », et nous terminons par un aperçu de la constitution chimique des bases xanthiques et de leur rôle chez les végétaux.

Nos recherches furent effectuées à l'Institut Pasteur, dans le laboratoire de chimie biologique dirigé par M. le Professeur Gabriel Bertrand. Qu'il nous soit permis d'exprimer ici notre sincère et respectueuse reconnaissance à cet éminent Maître, pour ses précieux conseils et pour le bienveillant accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire.

PAULLINIA CUPANA H. B. ET K.

39.



PAULLINIA Cupana.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

PAULLINIA CUPANA. H. B. & K.

Origine et caractères botaniques

La liane bien connue sous le nom *tupi* de « guarana » ⁽¹⁾ est originaire de la région équatoriale de l'Amérique du Sud. Elle est particulièrement abondante au long des rives humides et chaudes de l'Orénoque, de l'Amazone, du Rio Negro, du Madeira et du Tapajoz. Ce sont probablement les *pagés* d'une

(1) En langue tupi-guarani le mot « guarana » signifie, d'après Peckolt, *arbre*.

des nombreuses tribus tupis-guaranis, autrefois errantes dans la région, qui découvrirent ses vertus et répandirent son usage. Il est certain, en tout cas, que son emploi par les indigènes remonte à des temps immémoriaux.

Utilisé, d'abord comme stimulant, lors des combats et des fêtes, puis comme aphrodisiaque et comme médicament, le guarana ne tarda pas à devenir une sorte de panacée pour les populations qui s'en servaient. La légende de ses merveilleux effets est arrivée jusqu'à nous et, chez de nombreux indigènes, son culte existe encore. Plusieurs parties de la plante ont été de tout temps utilisées : les graines, dans la fabrication d'une pâte ; les racines, les feuilles et les fleurs sous forme d'infusions (87).

Vers le début du siècle dernier, Humboldt et Bonpland, voyageant dans les régions équinoxiales de l'Amérique du Sud, eurent connaissance du guarana. Ils le trouvèrent au Venezuela, sur les bords ombragés de l'Orénoque, non loin de la ville de Sao Fernando de Atabapo. En 1824, sa diagnose, faite par Kunth, paraissait dans le célèbre recueil des découvertes botaniques dues aux deux savants explorateurs. La précieuse liane y était décrite sous le nom spécifique de *Cupana*, dans le genre *Paullinia*, de la famille des Sapindacées (48).

En 1826, Von Martius, voyageant dans la région du Rio Negro, au Brésil, rencontra à son tour le guarana. Il l'étudia en détail et le classa également dans

la famille des Sapindacées, sous le nom de *Paullinia Sorbilis* (67). Mais, ayant eu connaissance, plus tard, de la priorité de Humboldt, Bonpland et Kunth, dans l'étude de cette plante, il abandonna sa dénomination pour adopter celle de *Paullinia Cupana*. C'est déjà sous ce titre que paraît, dans la « Flora Brasiliensis », la diagnose de Radlkofer (68).

Paullinia Cupana est un arbuste grimpant qui atteint parfois dix mètres de long. La tige principale et les différentes branches présentent des cannelures profondes, au nombre de quatre ou cinq. Les branches sont velues au sommet et glabres vers la base. Elles ont de 4 à 8 mm. de diamètre et leur écorce est brunâtre. Le corps ligneux est simple. Les feuilles sont isolées, en disposition distique. Elles sont composées pennées à cinq folioles et ont environ 40 cm. de long et de large. Le pétiole principal a environ 8 cm. de long; les pétioles secondaires sont très courts. Les folioles supérieures sont oblongues, les inférieures ovoïdes elles sont glabres sur les deux faces et portent de nombreuses glandes microscopiques. Chaque foliole a, en moyenne, 20 cm. de long et 9 cm. de large. Sur leur face inférieure se trouvent des utricules lactifères ramifiés. Leur nervation est pennée; le limbe est crénelé. Les bractées sont petites et caduques. Les pédicelles des inflorescences sont situés à l'aisselle des feuilles. Les fleurs sont polygames, zygomorphes, avec plan de symétrie oblique, disposées en grappes de cymes. Le calice est composé de cinq sépales libres, ovoïdes, velus à la face externe, mesurant environ

3 mm. Les pétales, au nombre de quatre, sont oblongs et munis à la face intérieure d'appendices ligulaires. Ils sont longs de 5 mm. et possèdent des glandes. L'androcée est composée de huit étamines. Les filets sont libres, plats, et revêtus de longs poils. Les anthères sont introrses, à quatre sacs s'ouvrant en long. Le pistil se compose de trois carpelles clos, concrescents en un ovaire triloculaire. Chaque loge contient un ovule campylotrope épínaste. L'ovaire se termine par un style trifide.

Le fruit est une capsule à déhiscence septicide, d'une belle couleur rouge lorsqu'il est mûr. La graine, ovoïde, d'environ 12 mm. de longueur, est munie d'un arillode assez abondant avant la maturation. Elle renferme un embryon à grands cotylédons, sans albumen. Son tégument est mince et d'un brun très foncé. Sur l'arillode on voit distinctement une proéminence bigéminée et une petite éminence en forme de cône. La première est le hile, point de croissance de la graine; la seconde est le micropyle. Si l'on fait une coupe longitudinale dans celui-ci on y trouve un petit canal, très mince, qui le parcourt d'une extrémité à l'autre et qui aboutit à une petite cavité. De cette cavité sort la radicule de l'embryon. Celle-ci est pourvue, à son extrémité, d'un épiderme composé de cellules scléreuses (108).

La floraison annuelle de *Paullinia Cupana* a lieu au mois de juillet. La fructification commence aux mois d'août et de septembre, mais la maturation n'est

terminée qu'en novembre ou décembre (93). La récolte se fait à cette époque : une seule liane peut fournir jusqu'à dix kilos de graines (22). Dans des conditions propices chaque individu vit environ quarante ans (73).

CHAPITRE II

LA PATE DE GUARANA

A. — Préparation et usages

Aussitôt mûrs, les fruits de *P. Cupana* sont cueillis et desséchés au soleil : les capsules s'ouvrent et les semences qu'elles renferment se laissent facilement retirer. Ces semences sont toutes revêtues d'un aril-lode incarnat que l'on sépare à l'aide d'une simple pression des doigts. Mise à part et desséchée, cette pulpe fournit une riche couleur dont les indigènes se servent pour teindre les dents.

Après ce premier traitement, les graines sont soumises à la torréfaction. On opère, à une douce chaleur, dans un four rudimentaire où on les remue continuellement. Elles acquièrent alors la couleur brun-foncé caractéristique de la pâte de guarana. En même temps les téguments se désagrègent, on les écrase à coups de bâtons dans de grands sacs en tissu, et on sépare les amandes par tamisage. Celles-ci, après trituration dans des mortiers en bois, sont humectées avec de l'eau, en quantité suffisante pour former une

pâte. Ensuite cette masse est modelée, à la main, en cylindres, en boules, en pains, etc... On passe alors à la fumigation qui a lieu dans des sortes de chaumières servant d'étuves. Les cylindres moulés sont posés sur des planches à des étages successifs et le feu est allumé par terre au milieu de la pièce. Les indigènes se servent, pour cette opération, de bois résineux et aromatiques, principalement du bois de « *muruxy* », qui dégage à la combustion une fumée claire d'une odeur très agréable. Au bout de cinq à six jours le séchage est terminé : la masse s'est durcie et est devenue, extérieurement, d'un brun plus foncé.

La pâte de guarana ainsi préparée peut durer indéfiniment sans s'altérer. Au moment de l'employer on la râpe contre la langue osseuse du Piracucu (*Arapaima gigas*, Cuv.), poisson très abondant dans le bassin de l'Amazone. La poudre obtenue de cette façon a un parfum caractéristique et un goût amer et astringent. On en fait usage, couramment, à la dose de deux petites cuillerées délayées dans un peu d'eau.

De nos jours, indigènes et civilisés de la région de Mauhés se partagent l'industrie de la pâte de guarana. Le produit indigène est, cependant, facile à distinguer de son concurrent, comme nous le montrerons plus loin.

Les applications thérapeutiques du guarana ont été très nombreuses autrefois. Par les vertus qu'on lui attribuait, de fébrifuge, de désinfectant intestinal, de diurétique, de tonique cardiaque, de stimulant général de la nutrition, il a eu un large emploi dans les

affections les plus diverses : fièvres palustres, dysenteries, hydropisies, artério-scléroses, hémorragies, névralgies, etc., etc. Le bruit de tant d'effets bienfaisants venant à se propager, l'usage de cette drogue s'est rapidement généralisé. Depuis 1750 sa consommation habituelle s'est étendue à une grande partie du Brésil, ainsi qu'à la Bolivie, au Pérou et au Venezuela (80).

Le principal centre de fabrication de la pâte de guarana est la municipalité de Mauhès, dans l'Etat de l'Amazone. Sa production annuelle est actuellement de 60.000 kilos environ. Cette production est presque en totalité consommée dans le pays, principalement dans l'Etat de Matto-Grosso.

L'exportation a été en 1926 de 6.613 kilos et en 1927 de 5.497 kilos (38).

B. — Histoire chimique

En 1817, la première référence à la pâte de guarana apparaît dans la littérature scientifique. Un officier français qui avait suivi l'ambassadeur de son pays à la cour du Brésil envoie, de Rio-de-Janeiro, à C. L. Cadet, deux remèdes très en vogue parmi les Brésiliens et qui lui ont paru inconnus en France. Le premier porte pour étiquette : racine *fédégose*, employée comme fébrifuge, sudorifique, etc. Le second est un morceau de guarana. C. L. Cadet l'examine et publie dans le *Journal de Pharmacie* la première note à son sujet. Il prend le produit pour un « extrait

résineux » et s'attache à décrire sommairement sa décoction aqueuse et sa teinture alcoolique (13). En 1820, J.-J. Virey faisant, dans le même journal, un commentaire sur les médicaments peu connus, décrit en ces termes la drogue brésilienne : « Suc résineux, concret, de couleur rouge foncée avec des marbrures blanches et grisâtres dans sa fracture conchoïde, comme serait un mélange de plusieurs gommés résines. Nous sommes portés à croire que c'est le suc gomme-résineux qui découle de l'arbre brésilien nommé *guaparaïba*, lequel est, selon Browne, le manglier, *rhizophora mangle* L., arbre de la famille des chèvrefeuilles, comme le lierre qui donne aussi une gomme résine analogue. » (112).

L'année suivante, la parution de l'ouvrage de Humboldt et Bonpland contenant la diagnose de *Paulinia Cupana* jette une lumière nouvelle sur la question. La vraie nature de la pâte de guarana y est établie avec toute précision, de façon à dissiper les erreurs et les doutes existants.

En 1826, Théodor Martius retire de cette drogue une substance cristallisée, blanche, amère, qui lui paraît être son principe actif. Il la désigne sous le nom de *guaranine*. La technique qui l'a conduit à cette découverte a un intérêt historique : 10 grammes de guarana en poudre, mélangés avec 3 grammes d'hydroxyde de calcium, sont épuisés par l'alcool, à plusieurs reprises, en chauffant légèrement. L'extrait alcoolique est évaporé à une douce chaleur, filtré à chaud, puis refroidi. Une matière huileuse se dépose.

La liqueur alcoolique est décantée et évaporée doucement jusqu'à sec. Le résidu, fortement chauffé, se sublime. A la première sublimation le produit qu'on recueille est d'une couleur jaunâtre ; quand on le sublime de nouveau on l'obtient entièrement blanc (69).

Th. Martius décrit longuement les propriétés physiques et chimiques du corps ainsi séparé mais, faute de matière première en quantité suffisante, il ne fait pas son analyse élémentaire. Au premier abord il prend la guaranine pour un alcaloïde. Plus tard, d'accord avec Trommsdorff, il la rapproche de la caryophylline (70).

Jusqu'en 1840 la chimie du guarana ne subit pas de modification. A cette époque Berthemot et Dechastelus reprennent l'étude de la drogue brésilienne. Les deux savants se proposent de séparer la *guaranine*, pour mieux examiner ses propriétés, et pour déterminer sa composition à l'aide de l'analyse élémentaire. En même temps ils ont en vue de fixer dans quel état se trouve la *guaranine* dans la pâte de guarana et si véritablement elle y préexiste. Dans ce but ils étudient successivement l'action de l'eau, de l'alcool et de l'éther sur la drogue. Après avoir reconnu que la matière cristalline de Martius y préexiste, en combinaison avec le tannin, ils s'attachent à déterminer sa constitution. De l'ensemble de leurs observations Berthemot et Deschastelus concluent que la *guaranine* est de la *caféine*. En effet, elles présentent le même aspect, la même cristallisation, la même

saveur, la même solubilité; leur composition élémentaire est identique, et elles réagissent toujours de la même manière vis-à-vis des divers agents chimiques. Le principe actif du guarana s'identifie ainsi avec celui du café et du thé. Dès lors son action physiologique est facile à comprendre et son emploi se dépouille de tout empirisme (10).

Dans la même année, Th. Martius publie le résultat des recherches auxquelles il a, de son côté, procédé sur la constitution de la *guaranine*. D'après ses analyses ce corps a la composition élémentaire suivante :

$$C = 49,68 \%$$

$$H = 5,14 \%$$

$$N = 29,18 \%$$

$$O = 16,00 \%$$

La combustion de la caféine fournissant les mêmes nombres, Martius conclut que ces deux substances sont *isomères*. Mais il n'établit pas leur identité (71).

Le premier dosage de caféine dans le guarana a été fait en 1857 par Stenhouse. Dans cette détermination l'auteur a suivi la technique déjà employée dans ses recherches antérieures sur le thé et le maté.

25 grammes de matière, finement pulvérisés, sont épuisés par l'eau distillée bouillante. Après refroidissement on ajoute de l'acétate basique de plomb en petit excès, ce qui provoque un précipité rouge-brunâtre volumineux. On filtre. Le précipité est lavé à l'eau bouillante à plusieurs reprises, et les liquides réunis sont traités par l'hydrogène sulfuré jusqu'à

précipitation complète du plomb. Le liquide clair séparé du sulfure de plomb est ensuite évaporé au bain-marie et le résidu est dissous dans une petite quantité d'alcool bouillant. Après filtration, et évaporation lente de l'alcool, des cristaux jaunâtres se déposent. Ils sont comprimés entre deux feuilles de papier buvard et recristallisés dans l'alcool (101).

Par ce procédé Stenhouse a trouvé 5,04 % de caféïne dans la pâte de guarana. Cette richesse extraordinaire en principe actif attira de nouveau l'attention des chercheurs sur la drogue brésilienne et une grande série de travaux s'en suivirent ayant pour but de vérifier la détermination de Stenhouse. Les résultats de ces recherches ne sont pas concordants. Les valeurs trouvées par les différents auteurs peuvent être classées dans deux groupes : les unes, autour de 5 % ; les autres, de 3 %. Nous les rappelons pour mémoire :

Stenhouse (101) (1857).....	5,04 %
Peckolt (81) (1865).....	4,28 %
Greehe (36) (1877).....	5,05 %
Feemster (23) (1883).....	4,32 %
Squibb (96) (1885).....	4,83 %
Bochefontaine et Gosset (11) (1886).	4,50 %
Zohlenhofer (120) (1882).....	2,80 %
A. Kremel (60) (1888).....	3,10 %
Thoms (105) (1892).....	2,60 %
E. Kirmsse (52) (1898).....	3,12 %
Humphrey (49) (1907).....	2,50 %

etc., etc...

En dehors de la caféïne deux autres alcaloïdes ont été signalés dans la pâte de guarana ; l'un par Schär, en 1890, l'autre par Nierenstein, en 1910.

Le premier serait un corps analogue à la morphine, et Schär dit l'avoir obtenu par la méthode d'extraction de Stas-Otto. A l'appui de sa découverte l'auteur présente les observations suivantes :

1°) Le corps en question se dissout dans l'acide sulfurique rectifié en donnant une coloration jaunâtre. Si on ajoute à cette solution un volume égal de réactif de Fröhde (0.001 gr. de molybdate de sodium dans 1 cc. de H^2SO_4), on obtient une coloration intense rouge-cerise qui passe immédiatement au rouge-violet.

2°) Dissolvant la substance dans l'acide sulfurique additionné de petites quantités de KNO_3 , il se forme une coloration brune, un peu plus intense que celle obtenue dans les mêmes conditions avec la morphine.

3°) Si on ajoute à l'acide sulfurique de l'acide titanique, le corps mentionné donne une coloration rouge-brun que l'on peut difficilement distinguer de la coloration que donne la morphine dans les mêmes conditions.

4°) Avec l'acide sulfurique rectifié et le nitrate basique de bismuth il donne la même coloration brun-noir que la morphine.

5°) Mais la principale analogie que présente la substance en question avec la morphine est l'action réductrice qu'elle exerce sur une solution de chlorure

ferrique et ferri cyanure de potassium (formation d'un précipité de bleu de Berlin) (91).

Thoms, en 1892, confirme l'existence de ce corps dans la pâte de guarana. Il déclare l'avoir isolé incidemment au cours de ses recherches et affirme qu'il ne s'agit ni de la caféïne, ni de la théobromine (105).

En 1910, Nierenstein entreprend, à Liverpool, de nouvelles études sur le guarana. La première conclusion à laquelle il arrive est que le principal constituant de cette drogue n'est pas la caféïne, mais un alcaloïde très différent qu'il désigne sous le nom de *B-guaranine*. Il prétend l'avoir obtenu à l'état pur en épuisant la poudre de guarana, finement divisée, par l'alcool contenant 1 p. 100 d'acide chlorhydrique, au bain-marie. Après refroidissement des liqueurs alcooliques filtrées il ajoute la quantité d'ammoniaque nécessaire à la neutralisation de l'acide chlorhydrique. La *B-guaranine* se dépose sous forme d'une poudre brune. Après une nouvelle dissolution dans l'alcool bouillant, le produit est purifié par le noir animal. La solution filtrée et évaporée jusqu'au tiers du volume initial laisse déposer des petits cristaux en aiguille. Ces cristaux fondent entre 217 et 219°, mais à la température de 167-169° une petite décomposition a déjà lieu.

Nierenstein procède à différentes analyses élémentaires de son produit et établit sa formule brute : $C^{40} H^{47} O^{21} N^4$.

Trouvé : C = 47,47 % ; 47,35 % ; 47,35 %

H = 5,50 % ; 5,44 % ; 5,27 %

N = 9,24 % ; 9,00 %

Calculé ($C^{40} H^{47} O^{21} N^4$).

C = 47,00 %

H = 4,90 %

N = 9,14 %

Pour mieux l'étudier, il prépara divers dérivés de cette substance.

Par l'action de l'anhydride acétique à chaud il obtient un dérivé acétylé cristallisant dans l'alcool en petites aiguilles de point de fusion 192-196°. Traitée par l'iodure de méthyle, la *B-guaranine* donne naissance au composé $C^{40} H^{47} O^{21} N^4 CH^3 I$ dont on obtient facilement la base libre $C^{40} H^{47} O^{21} N^4 CH^3 OH$ par l'action de $Ag^2 O$ fraîchement préparé. La base cristallise dans le chloroforme en longues aiguilles fondant à 167-168°. Comme bien d'autres alcaloïdes la *B-guaranine* forme aussi, par action du Br un dérivé bromé, probablement $C^{40} H^{47} Br O^{21} N^4$, qui cristallise dans l'acide acétique et dans l'alcool, et fond à 236-237°.

De tous ces résultats Nierenstein conclut comme évident que la *B-guaranine* ne fait pas partie des bases puriques connues. Pour mieux étayer cette affirmation il dresse un tableau comparatif des points de fusion de la *B-guaranine*, de la *caféine*, de la *théobromine* et de quelques-uns de leurs dérivés (76).

	B-guaranine	Caféine	Théobromine
Base libre.....	217-219°	234-235°	329-330°
Dérivé acétylé.....	192-196°	inconnu	inconnu
» méthylé.....	167-168°	137-138°	119-121°
» bromé.....	236-237°	206-209°	inconnu

A côté de ces alcaloïdes, d'autres corps, de nature diverse, ont été signalés dans la pâte de guarana.

En 1861, Fourhier publie une liste des substances qu'il y a trouvées : 1°) de la gomme; 2°) de l'amidon; 3°) une huile verte fixe, d'une saveur âcre et corrosive; 4°) une huile volatile concrète; 5°) une huile volatile fluide, très aromatique, soluble dans l'eau faiblement alcoolisée; 6°) une huile volatile, soluble dans l'alcool à 90°, peu soluble dans l'eau, incolore, se colorant en rose au contact de la lumière; 7°) un principe particulier indéterminé contenant beaucoup d'acide tannique, se colorant en rouge foncé par le contact de la lumière, soluble dans l'éther à 65; 8°) du tannate de caféïne; 9°) de l'acide tannique (30).

Peckolt, en 1866, fait paraître une autre analyse d'ensemble accompagnée de quelques données numériques, mais très imprécise encore :

Caféïne	4,28 %
Huile fixe	4,55 %
Résine rouge	7,80 %
Matière colorante rouge.....	1,52 %
Saponine	0,06 %
Acide pyro-guarana	2,75 %
Matières albuminoïdes	1,75 %
Amidon	9,35 %
Acide guarana-tannique	5,90 %
Glucose	0,77 %
Fectine, acide malique, dextrine....	7,40 %
Cellulose	47,12 %
Eau	7,65 %

Dans la suite de nombreux chercheurs se sont par-

ticulièrément attachés à l'étude des matières tanniques du guarana.

En 1877, Greene obtient le premier, l'acide *guarana-tannique* à l'état cristallin. D'après un certain nombre de réactions il le considère comme analogue à l'acide cafétannique (37).

En 1890, Schär signale la présence d'une catéchine dans la pâte de guarana. Et cette découverte est confirmée par Kirmsse (51) quelques années plus tard.

Les analyses élémentaires auxquelles Schär a soumis sa catéchine (Paullinia-catéchine) offrent, cependant, des résultats très hétérogènes (91).

1) Paullinia-catéchine desséchée plusieurs semaines au-dessus de l'acide sulfurique :

C = 52.82 %; 52.53 %; 52.56 %.

H = 5.98 %; 5.89 %; 6.16 %.

2) Paullinia-catéchine séchée plusieurs semaines au-dessus de l'acide sulfurique, puis trois heures à 80-90° :

C = 62.09 %; 62.24 %; 62.27 %.

H = 5.24 %; 5.14 %; 5.14 %.

3) Paullinia-catéchine séchée dans le dessiccateur ordinaire, puis pendant deux semaines dans le vide sulfurique, et enfin pendant trois heures à 90° :

C = 63.00 %; 63.16 %.

H = 5.04 %; 4.81 %.

Vers 1910 Goris se propose d'approfondir l'étude de cette question. Encouragé par le succès de ses recherches sur la kola il se propose d'isoler le tannin

qui, dans le guarana, doit être combiné à la caféïne.

1.000 gr. de guarana en poudre sont traités en plusieurs fois par 5 litres d'alcool à 80°, à froid. Les liqueurs ainsi obtenues sont réunies et distillées dans un courant d'hydrogène jusqu'à consistance légèrement sirupeuse. On laisse refroidir, puis on ajoute du chloroforme; on agite et on abandonne le tout à la cave. Au bout de quelques jours, une masse cristalline se forme; elle est recueillie et séchée. Ces cristaux lavés au chloroforme ne cèdent que des doses extrêmement faibles de caféïne. Ils sont dissous dans l'eau et la solution aqueuse est agitée plusieurs fois avec du chloroforme, dans une ampoule à décantation. Par séparation et distillation des extraits chloroformiques on obtient de la caféïne pure. La liqueur aqueuse est ensuite filtrée et évaporée dans le vide sulfurique. A un moment donné des cristaux surgissent ayant les mêmes caractères analytiques que la *kolatine*. Goris les a appelés *guaranatine*. Les combustions auxquelles il a procédé lui ont fourni les résultats suivants :

$$C = 63,17 \% ; 63,21 \%$$

$$H = 4,98 \% ; 4,94 \%$$

Ces nombres ne différant pas beaucoup de ceux obtenus en dernier lieu par Schär, Goris conclut à l'identité de la *guaranatine* avec la Paullinia-catéchine (35).

Cependant Nierenstein, à la même époque, nie la présence de catéchines dans la pâte de guarana. Pour lui l'acide guarana-tannique est de nature très diffé-

rente (76). Il l'obtient à l'état de cristaux incolores de point de fusion 199-201°, et d'après les résultats numériques que lui donne l'analyse élémentaire, il n'admet aucun rapprochement avec la catéchine :

Trouvé : C = 52,98 %.

H = 5,17 %.

Catéchine : C = 62,06 %.

H = 4,83 %.

Mais il revient bientôt sur cette conclusion. Dans un nouveau travail publié en 1922, il rapproche déjà le tannin du guarana de celui du cachou. D'après lui l'acide guarana-tannique serait une substance cristallisable constituée par une molécule de dextrose et deux molécules d'acide gambir-catéchique. Cet acide est pour Nierenstein un isomère de l'acide gambir-catéchique obtenu par synthèse, et il propose qu'on le désigne du nom d'acide B-gambir-catéchique. Le tannin du guarana serait donc un glucoside susceptible d'être hydrolysé par l'émulsine en ses deux constituants. Voici la technique suivie par Nierenstein pour isoler ce tannin à l'état cristallisé :

Les graines de *P. Cupana* sont épuisées successivement, dans un extracteur soxhlet, par l'éther et le chloroforme (afin de séparer la chlorophylle et les matières grasses) et ensuite par l'acétate d'éthyle. Le tannin est retiré par ce dernier solvant. Pour le purifier il le déplace de l'éther acétique au moyen d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium saturée d'acide carbonique. Après l'avoir repris par l'acétate d'éthyle il sèche cette solution sur du sulfate de so-

dium anhydre. Il filtre puis évapore le solvant. Le résidu est dissous dans l'eau chaude. Cette solution, après refroidissement, est agitée avec 3 à 5 gr. de caséinogène exempt de matières grasses. Les tannins amorphes sont ainsi séparés. La solution filtrée est additionnée de quelques gouttes de chloroforme, et laissée en repos dans un endroit frais. Après trois ou quatre jours les premiers cristaux paraissent en petites aiguilles brunes. On les purifie par cristallisations successives dans l'eau, toujours en présence du chloroforme.

A l'état anhydre le point de fusion des cristaux est 259-261°. A l'état hydraté 199-201°. Les cristaux sont solubles dans l'acétate d'éthyle, l'alcool et l'acide acétique et donnent toutes les réactions colorées des catéchines. Leur combustion a fourni les résultats numériques suivants :

C = 55.9 %; 56.3 %; 56.0 %.

H = 4.6 %; 4.4 %; 4.5 %.

Le pourcentage de dextrose trouvé en hydrolisant le tannin est d'environ 22,2; et la dextrozanine obtenue fond à 202-204°.

L'acide B-gambir-catéchique séparé en même temps fond à 252-253°. L'analyse élémentaire fournit des résultats entièrement concordants avec la formule théorique $C^{16}H^{14}O^8$ (77).

★ ★

Telles sont, dans ses grandes lignes nos connais-

sances actuelles concernant la pâte de guarana. On voit que de nombreux points sont encore obscurs et que bien d'autres restent contradictoires.

Dans ces conditions il nous a paru intéressant d'entreprendre une révision générale de la constitution chimique de cette drogue.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

NOUVEL EXAMEN DE LA PATE DE GUARANA

Recherche et dosage de la caféine

Comme procédé général de recherche, susceptible de déceler la présence d'une base organique quelconque, même à très faibles doses, nous avons eu recours à l'acide silicotungstique. Ce réactif, proposé par G. Bertrand depuis 1899, est, en effet, d'une sensibilité extrême et son emploi s'impose dans tout travail de ce genre. G. Bertrand, dans de nombreux mémoires, en a indiqué les multiples applications et a examiné son mode d'action et la nature de ses composés (5).

L'acide silicotungstique, que l'on peut employer soit à l'état libre, soit à l'état de sel alcalin, donne avec les alcaloïdes des précipités, en général flocon-

neux, quelquefois caillebotés, pulvérulents ou même cristallins, qu'il est facile de recueillir par filtration. Ces précipités sont blancs ou de couleur pâle : jaune, chamois, ou saumon. Ils sont presque insolubles dans l'eau froide, un peu plus solubles dans l'eau bouillante et résistent, sans se dissoudre, aux acides même assez concentrés. G. Bertrand a déterminé la limite de sensibilité de cette réaction pour les principaux alcaloïdes végétaux. Les résultats trouvés varient, pour les différentes bases, entre 1/8.000 (conicine) et 1/1.000.000 (nicotine et spartéïne). Avec les bases xantiques la précipitation n'acquiert toute sa sensibilité qu'en présence d'une assez forte proportion d'acide libre : jusqu'à 3 ou 4 % de HCl, par exemple. Les silicotungstates qu'on obtient dans ce cas sont des sels acides. La facilité avec laquelle on peut régénérer les alcaloïdes des précipités obtenus mérite d'être spécialement signalée. Ces précipités sont, en effet, décomposés instantanément à froid par les alcalis étendus, même par l'ammoniaque : le silicium et le tungstène passent en solution et l'alcaloïde est mis en liberté. On n'a qu'à séparer celui-ci soit par filtration, s'il est insoluble, soit par agitation du liquide avec un dissolvant approprié, s'il reste dissous.

Pour le dosage spécial de la caféïne nous avons utilisé la méthode établie par G. Bertrand en 1902 (4). A titre d'essai nous avons fait une série de recherches comparatives entre ce procédé et les techniques proposées depuis par différents auteurs. Cet examen nous a confirmé les avantages de la méthode que nous

avons adoptée. Non seulement elle fournit directement des produits d'une pureté sensiblement plus grande que les autres, mais encore elle est plus rapide et plus simple.

D'une façon générale on peut classer les techniques d'extraction de la caféïne en trois groupes (34) :

1°) Extraction à l'eau, avec ou sans addition d'une base.

2°) Extraction à l'aide de solvants organiques, avec ou sans addition d'une base.

3°) Extraction avec des solutions de sels organiques (salicylate de sodium, benzoate de sodium, etc...).

Les méthodes dans lesquelles l'extraction de la caféïne se fait avec des solutions de sels organiques sont très longues et très imprécises. Elles sont pratiquement délaissées aujourd'hui. Celles qui font intervenir des solvants organiques présentent aussi divers inconvénients. On sait que pour réaliser l'extraction totale de la caféïne par ces solvants on humecte d'abord la matière première soit avec de l'eau, soit avec une base (ammoniaque) (29). Si on opère sur de la matière sèche, seule la caféïne à l'état libre est enlevée. L'extraction, dans l'un ou l'autre cas, est longue et exige, d'après certaines techniques, l'emploi d'appareils spéciaux. Les solvants les plus fréquemment employés sont le chloroforme, l'alcool, la benzine, l'acétone, l'éther acétique et le tétrachlorure de

carbone. Parmi ceux-ci, quelques-uns sont facilement inflammables, ce qui rend leur usage mal aisé. Dans d'autres la solubilité de la caféine est si faible qu'une série excessivement grande d'épuisements devient nécessaire pour que l'extraction soit totale. Mais le défaut qui nous paraît le plus grave dans l'emploi des solvants organiques est la série d'impuretés qu'ils entraînent avec la caféine : matières grasses, matières colorantes, tannins, résines, cires, etc... L'élimination de ces substances étrangères est difficile et ne s'obtient jamais sans risquer des pertes. D'après plusieurs expérimentateurs les seules méthodes de purification susceptibles de donner des résultats satisfaisants sont les méthodes par sublimation ou par traitement au permanganate de potassium. La sublimation a le défaut d'exiger des appareils spéciaux, d'un maniement, en général, peu commode (appareils de Nicolaysen, de Rüber, de Burman, de Philippe, etc.). Le traitement au permanganate de potassium, préconisé par Lendrich et Nottbohm (62) n'est pas toujours efficace et, d'un autre côté, augmente énormément la durée de l'opération.

Les méthodes d'extraction de la caféine par l'eau bouillante nous paraissent donner de meilleurs résultats. L'emploi simultané d'un alcali, jugé nécessaire par de multiples auteurs, n'a aucune raison d'être. La caféine est une *pseudo-base* et, comme l'a démontré G. Bertrand, les combinaisons dans lesquelles elle se trouve à l'intérieur des cellules végétales sont totalement décomposées par l'eau. Les alcalis ne jouent

donc aucun rôle dans les extractions: leur emploi est une surcharge inutile. Après l'extraction par l'eau les liquides réunis sont déféqués au sous-acétate de plomb ou à l'hydroxyde de cuivre à l'état naissant. Dans les liqueurs filtrées on élimine ensuite l'excès de ces métaux. Certains auteurs considèrent cette séparation comme dispensable. Dans l'un ou l'autre cas, les liquides sont concentrés et épuisés, à plusieurs reprises, dans une boule à décantation, avec un solvant organique, de préférence le chloroforme. Par évaporation de celui-ci, on obtient un résidu blanc de caféine anhydre. Si l'opération a été bien conduite le produit est suffisamment pur.

A titre d'exemples nous reproduirons plus loin quelques-uns des essais comparatifs que nous avons faits entre la méthode de G. Bertrand et d'autres procédés surgis postérieurement.

Nos analyses ont été réalisées sur des échantillons de fabrication indigène et sur des produits préparés par les civilisés. Des différences sensibles existent entre les uns et les autres, soit dans leur aspect extérieur, soit dans leur composition. La pâte indigène se présente en cylindres ayant en moyenne 34 cm. de longueur et 4 cm. de diamètre. Ils sont de couleur brun-noir et leur surface est rugueuse, incrustée de fragments de graines. Le poids moyen de chaque cylindre est de 480 gr. La pâte fabriquée par les civilisés est beaucoup plus homogène. Sa couleur est d'un brun-rouge; sa surface est lisse. Chaque cylindre, dont le poids moyen est de 135 gr., a 17,5 cm. de lon-

gueur et 3 cm. de diamètre. La dureté, soit des uns, soit des autres, est extrêmement grande.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les cylindres sont tout d'abord concassés dans un mortier mécanique. Réduits en petits fragments ou en poudre grossière, on les passe ensuite au moulin. Au cours de tous nos essais nous nous sommes servi, afin d'avoir une poudre aussi fine que possible, d'un type de moulin habituellement employé pour obtenir du « café turc ». Dans ces conditions, les extractions se font facilement, car le solvant entre en contact intime avec la poudre.

DOSAGE DE L'HUMIDITÉ ET DES CENDRES

Deux grammes de matière sont chauffées pendant quatre heures à l'étuve à 100°. Comme la caféïne est facilement volatile à une température plus élevée, on doit s'assurer que la température ne dépasse pas 100°. Après quatre heures de chauffage dans ces conditions le poids de la substance ne subit plus de variation. La nacelle contenant la matière est enfermée, au sortir de l'étuve, dans un tube bouché (pèse-filtre). Après refroidissement on pèse. La tare est faite avec un pèse-filtre identique.

Pour le dosage des cendres, on doit opérer en

deux temps, d'après la technique recommandée par G. Bertrand (9).

Cinq grammes de matière sont calcinées dans une capsule en platine à une température aussi basse que possible (sans dépasser le rouge sombre). Dès que la carbonisation de la matière est totale, on laisse refroidir, puis on traite le résidu par un peu d'eau. Les sels alcalins qui englobent le charbon se dissolvent, on décante le liquide sur un petit filtre et la solution est recueillie dans un verre à pied. On lave le résidu insoluble, à plusieurs reprises, avec de l'eau, et on place le filtre et son contenu dans la capsule en platine. On dessèche doucement et on incinère de nouveau. Comme les sels alcalins sont passés dans la solution aqueuse on peut chauffer franchement au rouge, sans craindre ni la fusion ni la volatilisation. Le résidu trouvé correspond aux cendres insolubles. Pour doser aussi les cendres solubles on verse dans la capsule les liquides de lavage et on évapore à sec au bain-marie, en terminant par un court chauffage au rouge sombre. On laisse refroidir et on pèse. La tare doit être faite avec une autre capsule.

	Pâte de guarana des indigènes	Pâte de guarana de fabrication industrielle
Humidité.....	8,50 %	7,76 %
Cendres totales.....	2,12 %	2,09 %
Cendres insolubles...	0,42 %	0,50 %
Cendres solubles....	1,70 %	1,59 %

MÉTHODES DE DOSAGE

Comme nous l'avons déjà signalé, des écarts très importants existent entre les diverses teneurs attribuées à la caféïne dans la pâte de guarana. Les données de la littérature sont d'ailleurs très incomplètes : elles n'indiquent jamais s'il s'agit de la pâte indigène ou de la pâte fabriquée par les civilisés; elles ne précisent point si la caféïne est pesée à l'état anhydre ou hydratée, ni si les valeurs sont calculées par rapport à la matière sèche ou non. En outre, aucune indication n'est fournie, sur le degré de pureté des produits obtenus.

Nous nous sommes proposés de fixer l'influence des procédés d'extraction sur l'évaluation de la caféïne et de déterminer la teneur en principe actif de chacun des types de pâte connus. Les résultats trouvés prouvent que les différences provenant de l'emploi des diverses méthodes courantes sont assez faibles. Les procédés d'extraction à l'eau fournissent, en général, des rendements un peu plus élevés que les méthodes d'extraction à l'aide de solvants organiques. La caféïne obtenue par le premier système est aussi plus pure que celle obtenue par le second. Mais les petites divergences constatées n'ont aucun rapport avec les grands écarts que la littérature signale dans les teneurs en caféïne de la pâte de guarana. L'examen comparatif du produit indigène et de celui fabriqué par les civilisés nous a révélé une

proportion moins grande de caféine dans celui-ci, ce qui est déterminé par l'addition d'un peu d'amidon à la pâte. La présence d'amidon est d'ailleurs très gênante dans les extractions avec de l'eau. Pour éviter de le dissoudre on est tenu d'opérer à une température qui ne dépasse pas 50°, ce qui rend l'extraction un peu longue. Nous résumerons dans le tableau suivant les résultats numériques de ces différents essais.

1°) *Méthode de Lendrich (1909) (62).*

Dix grammes de pâte de guarana en poudre fine sont humectées avec 5 cm³ environ d'eau. On les laisse en contact pendant une heure en remuant fréquemment la masse. Le tout est ensuite transféré dans une cartouche et soumis à l'extraction au tétrachlorure de carbone, pendant trois heures (extracteur Soxhlet). Le solvant est évaporé et le résidu est épuisé à plusieurs reprises par l'eau bouillante. La solution aqueuse est filtrée et refroidie. On procède à sa purification en ajoutant 10 cm³ d'une solution diluée de permanganate de potassium (1 %). Après un quart d'heure de contact le manganèse ainsi introduit est précipité par addition de quelques gouttes d'eau oxygénée en solution acide (1 cm³ d'acide acétique et 10 cm³ d'eau). On chauffe au bain-marie pendant un quart d'heure et on filtre. Le précipité est lavé à l'eau bouillante. Après évaporation du filtrat le résidu sec est épuisé par le chloroforme. On filtre, on évapore

la solution chloroformique dans une capsule tarée, et on pèse le produit obtenu.

L'application de ce procédé exige sept heures de travail, en moyenne. Malgré les soins de la purification la caféine n'est pas toujours blanche.

2°) *Méthode de M^{me} S. Gobert (1926) (34).*

Cinq grammes de pâte de guarana très finement pulvérisés sont pesés dans un tube à centrifuger, en verre. On ajoute 5 cm³ d'ammoniaque à 22° Baumé et on laisse pendant 15 ou 20 minutes en contact en remuant. On procède à quatre extractions à l'éther acétique en employant, chaque fois, 25 cm³ de liquide. Après centrifugation et décantation du liquide dans une fiole conique, on distille l'éther acétique, en ayant soin d'ajouter ½ gr. de paraffine. Le résidu d'extraction est ensuite desséché pendant une demi-heure à l'étuve à 100°. Ce résidu est soumis par trois fois à l'extraction à l'eau bouillante (50 cm³) en laissant digérer quelques minutes sur le bain-marie.

On réunit les liquides d'extraction dans un Becher d'environ 400 cm³ et on les chauffe à ébullition sur une plaque d'amiante. Après refroidissement, le liquide filtré est traité par 20 cm³ de K Mn O⁴ à 1 %. On laisse un quart d'heure en contact, et on précipite le manganèse à l'aide d'eau oxygénée à 12 volumes contenant 1 % d'acide acétique glacial. On chauffe pendant un quart d'heure au bain-marie et on filtre, en ayant soin de laver le précipité à l'eau bouillante.

Après évaporation, le résidu est desséché un quart d'heure à l'étuve à 100°. On l'épuise trois fois avec 25 cm³ de chloroforme en couvrant le Becher et en le plaçant sur la plaque du bain-marie. On filtre, chaque fois, dans une fiole conique tarée, et on lave avec 15 cm³ de CHCl₃. Le chloroforme est distillé avec beaucoup de précaution et le résidu, séché une demi-heure à l'étuve à 100°, est mis à l'exsiccateur, et pesé six heures après.

L'ensemble des manipulations de ce procédé dure environ douze heures.

3°) *Méthode de A. Uglow et M. Schapiro (1928) (109).*

Le principe de cette méthode est basé sur la précipitation des matières albuminoïdes, pigments, résines, et autres substances étrangères, par l'hydroxyde de cuivre à l'état naissant, suivie de l'agitation du liquide avec le chloroforme.

Dix grammes de guarana en poudre fine sont chauffés à l'ébullition pendant 30 minutes dans 400 cm³ d'une solution de Na²CO³ à 4 %. Le volume est maintenu constant, pendant l'ébullition, par addition d'eau. Après refroidissement du liquide à 60° ou 70°, les matières tanniques, albuminoïdes, etc., sont précipitées par une solution saturée de sulfate de cuivre. Le refroidissement à 60° ou 70° a pour but de ralentir la réaction de précipitation. A une température plus élevée le dégagement de CO² devient très vif, le liquide mousse et il en résulte des projections.

La solution de Cu SO_4 doit être ajoutée chaque fois à petites doses. On continue la précipitation jusqu'à l'apparition d'une réaction faiblement acide au tournesol. Après un essai à part pour vérifier si la précipitation est terminée, la masse totale est transvasée dans un ballon jaugé, bouché à l'émeri. Le vase où la précipitation a été accomplie est rincé avec de l'eau qu'on introduit dans le ballon jusqu'à compléter 500 cm^3 . Après agitation, de façon à rendre la solution homogène, on laisse le ballon en repos pendant vingt minutes. On prélève 300 cm^3 de liquide et on les agite avec 80 cm^3 de chloroforme dans une boule à décantation. On réalise ainsi quatre épuisements. On réunit les solutions chloroformiques dans un ballon taré et on distille le chloroforme à une température qui ne doit pas dépasser 60° pour que les vapeurs n'entraînent pas de caféine. Après le départ du chloroforme, la caféine se dépose sur la paroi du ballon en aiguilles très blanches. On sèche à une température de $80\text{--}90^\circ$ puis on pèse. En multipliant le poids trouvé par le coefficient 16,6, on a le pourcentage en caféine. L'emploi de cette technique demande cinq heures de travail.

4°) *Méthode de G. Bertrand (1902) (8).*

Dix grammes de pâte de guarana en poudre fine sont mis à bouillir pendant une dizaine de minutes avec 100 cm^3 d'eau. On transvase le tout dans un tube de verre et on centrifuge pendant cinq minutes. On

décante le liquide dans une fiole jaugée de 500 cm³, puis on procède à quatre nouvelles extractions semblables, que l'on réunit dans la même fiole. Il n'y a pas tout à fait un demi-litre de liquide; on précipite par le sous-acétate de plomb, ajouté en très léger excès; on complète le volume à un demi-litre, on agite et, après décantation, on filtre à la trompe dans un creuset de Gooch. On recueille 400 cm³ de liquide auxquels on ajoute un petit excès d'acide sulfurique pour précipiter le plomb; on filtre et on lave le précipité. Le liquide et les eaux de lavage sont concentrés dans le vide au volume de 30 à 40 cm³ que l'on fait passer, en filtrant, dans une ampoule à robinet. En lavant le ballon distillatoire, on a finalement 40 à 50 cm³ au plus de liquide renfermant toute la caféine. On extrait celle-ci par agitation avec du chloroforme; quatre ou cinq agitations avec 50 cm³ de chloroforme, chaque fois, sont nécessaires. Les solutions chloroformiques réunies, filtrées et évaporées, laissent la caféine anhydre, correspondant à 8 gr. de produit. Il suffit de multiplier par 12.5 pour avoir la teneur pour cent. Si on opère dans de bonnes conditions le produit obtenu est très pur et la durée de l'extraction ne dépasse pas 3 heures et demie.

Afin d'apprécier le degré de pureté de la caféine fournie par ces diverses méthodes nous avons, dans chaque cas, déterminé le point de fusion du résidu final. La caféine, on le sait, sublime avant de fondre. Son point de fusion ne peut être mesuré d'une manière exacte qu'au bloc Maquenne. La tige du ther-

momètre doit plonger dans le bloc jusqu'au trait correspondant au point de fusion mesuré. Et la substance en examen doit être projetée sur la portion du bloc où se trouve plongé le réservoir du thermomètre. Dans ces conditions la température déterminée ne réclame aucune correction.

Par ce procédé nous avons trouvé pour un produit soigneusement purifié le point de fusion 236° .

Méthodes de dosage de la caféine.	Pâte de guarana de fabrication indigène. —— Caféine anhydre % de matière sèche.	Pâte de guarana de fabrication industrielle. —— Caféine anhydre % de matière sèche.	Point de fusion des produits extraits. —— (Bloc Maquenne).	Durée moyenne de chaque extraction.
Lendrich	4,76	4,18	220-221°	7 h.
M ^{me} S. Gobert.....	4,79	4,17	226-227°	12 h.
Uglow & Schapiro...	4,86	4,20	232-233°	5 h.
G. Bertrand.....	4,85	4,24	233-234°	3 h. 1/2

TENEUR EN CAFÉINE DE LA PÂTE INDIGÈNE
ET DE LA PÂTE INDUSTRIELLE

L'analyse, par la méthode de G. Bertrand, d'un grand nombre d'échantillons de pâte de guarana fabriqués à des époques très diverses, a prouvé que la teneur en caféine de cette drogue est sensiblement constante. Dans le produit indigène la teneur moyenne, d'après les résultats fournis par 10 échantillons différents, est de 4,8 %. Les oscillations dépassent rarement 0,25 %. Dans le produit industriel la teneur moyenne est de 4,2 % et les écarts restent toujours inférieurs à 0,3 %.

Afin de bien établir si d'autres bases accompagnent la caféine séparée de la pâte de guarana par la méthode de G. Bertrand, nous avons procédé à des extractions en quantité appréciable pour nous permettre de réaliser des recherches détaillées à ce sujet.

250 grammes de la pâte indigène finement moulue sont épuisés à fond par l'eau bouillante. L'extraction est arrêtée quand l'acide silicotungstique n'indique plus la présence de bases organiques dans les extraits. Il y a alors environ 10 litres de solution. Après défécation, et concentration du liquide, dans le vide, jusqu'au volume de 700 cm³, nous le faisons passer, en filtrant, dans une ampoule à décantation de 2 litres. Par agitation avec du chloroforme toute la caféine passe dans ce solvant. Cinq agitations avec 1 litre de chloroforme chaque fois sont nécessaires. L'addition

d'acide silicotungstique à la solution aqueuse, concentrée à un plus faible volume, ne produit aucun précipité, même en présence d'acide chlorhydrique. Toutes les bases organiques qui auraient pu être initialement dissoutes dans l'eau sont donc passées dans le chloroforme. Par évaporation de celui-ci il reste dans le ballon un résidu presque blanc. Nous le reprenons par l'eau bouillante avec un peu de noir animal, et après quelques minutes d'ébullition, nous procédons à la filtration à chaud. La solution filtrée est évaporée au bain-marie. Le résidu obtenu, séché à l'étuve à 100° , pèse environ 11 gr. Son point de fusion est $232-233^{\circ}$. Nous avons essayé de la fractionner par l'eau.

Dix grammes ont été agités, dans un flacon, avec 100 cm^3 d'eau bi-distillée, par une roue hydraulique. Chaque agitation dure 24 heures, à la température du laboratoire. La solution saturée est décantée, puis filtrée rapidement; après repos on la concentre; le résidu, repris par l'eau, est de nouveau soumis à l'agitation par la roue hydraulique. Cette opération est répétée jusqu'à épuisement complet de la substance. Dès le deuxième fractionnement le coefficient de solubilité et le point de fusion sont rigoureusement constants. La première fraction contenant les diverses impuretés ne diffère d'ailleurs que très peu des autres.

Fraction I :

Coefficient de solubilité à 20° : 1,70 gr. dans 100 cm^3 d'eau.

Point de fusion : 230° .

Fractions II, III, IV, V, VI :

Coefficient de solubilité à 20° : 1,68 gr. dans 100 cm³ d'eau.

Point de fusion : 235-236°.

La fraction I reprise par l'eau chaude et légèrement acidifiée par l'acide chlorhydrique, est traitée par une solution d'acide silicotungstique à 5 % en léger excès. Le précipité essoré, lavé à l'eau acidulée, est décomposé par un peu d'ammoniaque en milieu aqueux. Par agitation avec du chloroforme, dans une ampoule à robinet, la base organique libre passe dans ce solvant. Après évaporation de celui-ci on a déterminé le point de fusion du produit obtenu et son coefficient de solubilité. Nous avons trouvé :

Point de fusion : 235-236°.

Coefficient de solubilité à 20° : 1,68.

L'analyse élémentaire réalisée sur la fraction I (après purification par l'acide silicotungstique), et sur la fraction VI, a fourni des résultats parfaitement concordants.

Fractions	C	H	N
I	49,50 %	5,31 %	28,80 %
VI	49,47 %	5,40 %	28,83 %

Le produit extrait de la pâte de guarana par la méthode de G. Bertrand est composé exclusivement de caféïne.

CHAPITRE II

A. — Recherche de la base analogue à la morphine, signalée par Schär, et par Thoms, dans la pâte de Guarana

Afin de suivre la technique employée par Schär dans son étude sur le guarana, nous avons soumis cette drogue à l'extraction par la méthode de Stas-Otto (97).

100 gr. de pâte de guarana en poudre fine sont mélangés avec 300 cm³ d'alcool à 90° et 1,5 gr. d'acide tartrique. On laisse digérer le mélange pendant une demi-heure à 70-75°; après centrifugation on décante le liquide. On recommence l'extraction à trois reprises différentes. Les liquides alcooliques filtrés sont réunis et distillés dans le vide. On s'arrête lorsque la majeure partie de l'alcool a distillé, et on laisse refroidir; les corps gras sont séparés à l'aide d'un filtre mouillé. Le liquide filtré acide est agité avec de l'éther.

Après décantation et évaporation de celui-ci Schär obtient un résidu dans lequel il signale la pré-

sence d'une base organique analogue à la morphine (91). Nous avons repris l'examen de ce résidu séparé dans les conditions indiquées par Schär.

Nos conclusions diffèrent entièrement des siennes. Il n'y a dans le produit retiré de l'extrait éthéré qu'une base organique : la caféine. Les réactions de coloration et de précipitation que Schär a observées et qu'il considère comme des preuves de la présence d'une autre base, analogue à la morphine, proviennent des matières tanniques entraînées par l'éther. La morphine, en effet, présente ces mêmes réactions, mais elles ne lui sont nullement spécifiques : ce sont des réactions générales des groupements phénoliques.

Le résidu de l'extrait éthéré a été traité par l'eau bouillante. A la solution aqueuse nous avons additionné quelques gouttes de HCl et de l'acide silicotungstique en petit excès afin de précipiter toutes les bases organiques qui pourraient s'y trouver. Le précipité déposé à froid est séparé par centrifugation, lavé et décomposé par l'ammoniaque en milieu aqueux. La solution est agitée avec de l'éther un grand nombre de fois. Les extraits éthérés réunis et distillés laissent un résidu blanc, cristallin, de caféine pure : point de fusion $234-235^{\circ}$; réaction de la murexyde, positive; coefficient de solubilité, dans l'eau, à 20° : 1,68.

Le liquide ammoniacal est ensuite agité avec de la benzine et du chloroforme, puis, avec de l'alcool amylique. Par évaporation de ces solvants, nous n'avons obtenu aucun résidu.

B. — Recherche de la B-Guaranine de Nierenstein

L'Ecole de Médecine Tropicale de Liverpool a envoyé à l'Etat de l'Amazonie, en 1905, une mission scientifique dans le but de faire des investigations sur la fièvre jaune et sur d'autres maladies tropicales. Cette mission, dirigée par le Dr. Wolferstan Thomas, est restée à Manaos de 1905 à 1909. En 1910, les *Annales de Médecine Tropicale et de Parasitologie* de l'Université de Liverpool ont commencé la publication des divers travaux médicaux, microbiologiques, chimiques, etc..., réalisés sur l'initiative de cette mission. Différentes plantes de l'Amazonie ont été, à ce moment-là, l'objet d'études détaillées et, parmi elles, le guarana. En juin 1910, Prosper H. Marsden publie, dans les *Annales*, un aperçu historique de cette drogue, suivi de sa description botanique, avec des figures et de nombreuses données chimiques. Dans ce même numéro, Nierenstein publie ses recherches personnelles sur les constituants de la drogue de l'Amazonie. Les échantillons qu'il a employés dans ce travail lui ont été fournis par le Dr. Wolferstan Thomas et sont certainement les mêmes que P. H. Marsden a longuement décrits. Nierenstein renvoie, d'ailleurs, ses lecteurs, au travail de Marsden, pour une vue d'ensemble sur la question du guarana. Il ne reste

donc aucun doute que ce fut bien le produit brésilien préparé avec les graines de *Paullinia Cupana* que Nierenstein a examiné. Ce point était important à fixer.

Les conclusions auxquelles ce chimiste est arrivé sont profondément étranges. Elles passent, cependant, depuis 1910, au Brésil particulièrement, pour des vérités bien établies. En résumé, Nierenstein affirme, comme nous l'avons déjà rappelé, que le principal constituant de la pâte de guarana, n'est pas la caféine, mais un autre alcaloïde, de formule bizarre, $C^{40}H^{47}O^{21}N^4$, qu'il appelle *B-guaranine*, et qui, évidemment, n'a rien de commun avec les bases puriques. Il ne signale même pas la caféine dans les échantillons de guarana examinés.

Nous avons repris le travail de Nierenstein en suivant strictement sa technique (76).

Vingt grammes de pâte de guarana finement moulue sont digérés, à trois reprises successives, au bain-marie, avec 50 cm³ d'alcool, à 95°, contenant un demi cm³ de HCl concentré. Les extraits fortement colorés d'un beau rouge sont réunis et neutralisés, après refroidissement, par une quantité calculée d'ammoniaque. Quand la neutralisation est opérée, un produit brun-rouge se dépose. On le sépare par centrifugation et on le redissout dans l'alcool bouillant. A cette solution encore colorée on ajoute du noir animal. On laisse bouillir pendant un quart d'heure, on filtre et on évapore jusqu'à un tiers à peu près du volume initial. Des cristaux en aiguilles se déposent.

Ils sont jaunâtres, d'un goût amer, solubles dans l'eau et précipitables par les réactifs généraux des alcaloïdes. Ils subliment, avant de fondre, vers 180° . Point de fusion au bloc Maquenne : $222-223^{\circ}$.

Nierenstein, dans ces mêmes conditions, a obtenu un produit de point de fusion $217-219^{\circ}$, qui cristallise aussi en aiguilles. Sans s'arrêter à la détermination d'autres constantes il le sèche à l'étuve à 116° , pendant 2 heures, et le soumet à l'analyse élémentaire. Il nous semble cependant que rien ne l'assurait de la pureté du corps séparé.

Nous avons essayé, d'abord, de purifier le produit obtenu d'après le procédé de Nierenstein :

1°) par sublimation ;

2°) par cristallisation fractionnée dans l'eau et dans l'alcool ;

3°) par précipitation, sous forme de silicotungstate, régénération par l'ammoniaque, et récupération à l'aide d'un solvant organique.

Par l'emploi de l'un quelconque de ces procédés, nous sommes toujours arrivés à une même substance cristallisée, blanche, de point de fusion $235-236^{\circ}$, se confondant entièrement avec la caféïne.

Nierenstein avait considéré comme pur, un produit en réalité fortement contaminé de matières étrangères. Si l'on compare l'analyse élémentaire qu'il en a faite, avec la composition théorique de la caféïne, on est surtout frappé par leur énorme différence en azote.

	Produit analysé par Nierenstein.	Caféine (composition théorique).
C	47,47 %	49,48 %
H	5,50 %	5,16 %
N	9,24 %	28,86 %

Cette différence, cependant, est facile à expliquer parce que les impuretés existantes dans le produit sont constituées presque exclusivement de matières grasses et de matières tanniques non azotées. Nierenstein, d'ailleurs, passe sous silence la méthode qu'il a employée dans les déterminations de N. N'aurait-il pas fait usage, à tort, de la méthode de Kjeldahl ? Dans ce cas la faible teneur en azote proviendrait aussi de l'emploi de ce procédé.

Quoi qu'il en soit, il résulte de nos essais, que le produit extrait de la pâte de guarana, d'après la technique de Nierenstein, n'est autre chose que la caféine impure. La *B-guaranine* n'a pas d'individualité chimique.

Ce qui est plus étonnant encore, c'est la série de dérivés que Nierenstein décrit comme ayant été préparés avec cette base : dérivés méthylés, acétylés et bromés. *A priori* on aurait pu nier leur existence. Tous les essais que nous avons faits pour les obtenir, ont eu des résultats absolument négatifs.

Contrairement aux affirmations de Schär, Thoms et Nierenstein, la pâte de guarana ne contient aucun

alcaloïde autre que la caféïne. Celle-ci est son seul principe actif. Le pourcentage de cette base est en moyenne, dans la pâte indigène, de 4,8 % et de 4,2 % dans la pâte industrielle. Cette différence provient de l'addition, par l'industrie, d'amidon aux graines de *P. Cupâna*.

La pâte de guarana est la drogue la plus riche en caféïne. Il est à remarquer, cependant, qu'elle exerce, à doses égales, une action moins excitante que le café, le thé ou le maté. Cette anomalie peut s'expliquer : 1°) parce que la pâte de guarana est ingérée, sans que la caféïne qu'elle renferme soit préalablement dissoute, comme on le fait avec les autres boissons. C'est dans l'organisme que la dissolution va se réaliser. En conséquence, l'absorption de la caféïne a lieu très lentement, tandis qu'elle se fait par doses massives quand on boit du café, du thé ou du maté. 2°) parce que le guarana paraît ne pas contenir certains produits étrangers, particulièrement actifs, comme le furfurol et autres, assez abondants, par exemple, dans le café.

TROISIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

RECHERCHES SUR PAULLINIA CUPANA

L'usage que font les indigènes de la vallée de l'Amazone, des fleurs, des feuilles et des racines de *Paullina Cupana*, nous a paru un premier indice que, non seulement les graines, mais encore d'autres parties de cette plante, contiennent de la caféïne. A côté de celle-ci d'autres bases organiques du même groupe, ou de groupes différents, pourraient d'ailleurs également se trouver dans les tissus de *P. Cupana*. Dans l'espoir d'éclaircir cette question, nous avons entrepris la recherche systématique et le dosage des alcaloïdes dans cette liane. Parmi les diverses plantes à caféïne, *Paullinia Cupana* est peut-être la seule qui n'a jamais été l'objet d'études chimiques

approfondies. Sauf de rares données de Peckolt et de Tschirch, et quelques indications microchimiques de Weevers (115), les unes et les autres très imprécises d'ailleurs, aucun autre renseignement à son sujet ne se trouve dans la littérature scientifique.

Les échantillons que nous avons examinés au cours de ce travail nous ont été envoyés de Mauhès, dans l'Etat de l'Amazonie, par les soins du Ministère de l'Agriculture du Brésil ⁽¹⁾.

ESSAIS D'ORIENTATION

Nos recherches ont porté, séparément, sur le tégument et l'amande des graines, les fleurs, les feuilles, l'écorce et le bois de la tige, et l'écorce et le bois de la racine. Au moment de les soumettre aux extractions, ces diverses parties de la plante étaient réduites en poudre fine. En même temps une petite portion était prélevée pour le dosage de l'humidité.

Afin de séparer les divers alcaloïdes qui pourraient se trouver dans *P. Cupana*, nous avons procédé, sur chaque échantillon, à différents essais d'extraction.

A) *Par l'eau :*

1) neutre;

2) acidulée, à l'acide chlorhydrique (1/10 N) ou à l'acide sulfurique;

(1) Je suis heureux de témoigner à mon éminent ami le Dr. A. Torres Filho, Director do Serviço de Inspeção e Fomento Agrícolas, ma vive reconnaissance pour l'intérêt qu'il a bien voulu prendre à l'envoi de ces échantillons.

3) alcalinisée au bicarbonate de sodium.

B) *Par les solvants organiques* (sur la matière humectée d'eau) :

- 1) en milieu neutre;
- 2) en milieu acidulé à l'acide tartrique;
- 3) en milieu alcalinisé par Mg O ou Ca O.

D'après les résultats trouvés, tous les organes de la plante en étude contiennent des bases organiques, et ces bases sont totalement extraites par l'eau en milieu neutre. Les résidus des épuisements aqueux, soumis aux divers autres procédés d'extraction, ne fournissent plus la moindre trace d'alcaloïdes.

Dans ces recherches préliminaires nous avons employé tour à tour les méthodes de G. Bertrand (8), de Erdmann et Uslar (21), de Dragendorff (19), de Uglow et Schapiro (102), de Lohmann (65), de Stas-Otto (97), etc... Les produits extraits étaient toujours traités par les réactifs généraux des alcaloïdes, et leurs réactions spécifiques étaient en même temps soigneusement examinées. D'après l'ensemble des faits observés, nous sommes amenés à conclure, que les produits extraits des organes de *P. Cupana* par des procédés si divers, sont tous constitués de bases organiques du groupe des *purines*. En effet, ils donnent, sans exception, les preuves de Strecker et de Weidel (103) à l'exclusion de toute autre réaction spécifique, et présentent, en plus, les différents caractères généraux de ce groupe.

RECHERCHE DES BASES PURIQUES DANS LES DIVERS
ORGANES DE P. CUPANA

Graines.

Par leur emploi dans la fabrication de la pâte de guarana, les graines représentent pour nous la partie la plus importante de P. Cupana.

Ce n'est pas, cependant, toute la graine, mais l'amande seulement, qui entre dans la composition de la pâte, le tégument restant en général sans utilisation.

Le poids moyen de chaque graine est de 0,67 gr.

Poids moyen de l'amande : 0,56 gr.

Poids moyen du tégument : 0,11 gr.

Sur 100 gr. de graines il y a 83,6 % d'amande et 16,4 % de tégument.

La composition de l'amande en bases xanthiques nous est connue par l'examen que nous avons fait de la pâte qu'elle sert à préparer. Sur le tégument la littérature nous fournit deux indications : d'après Peckolt, il s'y trouve de la caféine, dans la proportion de 2,4 % et, suivant Tschirch et Grogg, (107) on y rencontre de la théobromine.

Tégument. — Nous avons opéré d'abord sur 20 gr. de matière afin de doser avec précision la quantité de produit extrait par la méthode de G. Bertrand. Pour mieux déterminer la nature de ce produit, nous avons réalisé, ensuite, une extraction en plus grande

échelle : 300 gr. de tégument finement moulu ont été employés.

L'extraction sur 20 gr. de matière sèche nous a fourni 2.29 % de produit pur, avec tous les caractères de la caféine.

Les 300 gr. de tégument traitées de la même façon nous ont donné 6,6 gr. de substance. Nous avons soumis cet extrait au fractionnement par l'eau. Il s'est conduit comme de la caféine pure. L'affirmation de Tschirch et Grogg nous paraît donc dépourvue de fondement. Ni la théobromine, ni aucune autre base, n'accompagnent la caféine dans le tégument des graines de *P. Cupana*.

Amandes. — Dans l'examen direct des amandes nous avons surtout en vue comparer leur teneur en caféine avec celle des pâtes de guarana, de façon à établir si les manipulations auxquelles elles sont soumises au cours de la préparation de la pâte, déterminent des pertes de principe actif. Subsidiairement nous avons dosé l'humidité, les cendres et les matières grasses qu'elles contiennent.

Humidité : 11,02 %

Cendres totales : 2,07 %

Cendres solubles : 1,66 %

Cendres insolubles : 0,41 %

Matière grasse : 2,68 %

Pour la détermination de la matière grasse nous avons adopté la technique suivante : 20 gr. d'amandes finement moulues sont soumises à l'extraction par l'éther de pétrole dans un appareil Soxhlet. Quand

l'extraction est terminée, ce qui demande un temps assez long, la solution étherée est évaporée dans un ballon taré. L'extrait se compose de matières grasses et de caféine. On le traite à l'eau froide, à deux ou trois reprises, pour enlever la caféine, et les solutions aqueuses sont réunies dans une boule à décantation, en passant, d'abord par un filtre mouillé. On les agite rapidement avec de l'éther de pétrole, en petite quantité, qui enlève les traces d'huile entraînées par l'eau et laisse la caféine dans la solution. On rince à l'éther le filtre mouillé qui retient des gouttelettes d'huile, et on réunit tous les extraits étherés dans le ballon taré qui contient la matière grasse débarrassée de la caféine. On évapore, on chasse les dernières traces d'eau et d'éther de pétrole par un courant de gaz carbonique, on sèche le résidu à l'étuve, et on pèse.

La matière grasse ainsi obtenue est d'une belle couleur jaune-verdâtre. Son point de fusion, déterminé au tube capillaire, est 23-24°.

La teneur en caféine des amandes, calculée en matière sèche, est en moyenne de 4,40 %. Ce pourcentage est légèrement inférieur à celui qu'on trouve dans la pâte de guarana. Au lieu, donc, de diminution, il y a enrichissement en caféine, au cours de la préparation de ce produit. Cet enrichissement résulte de la perte de poids que subit la pâte par la volatilisation d'autres constituants pendant la fumigation.

Feuilles

Dans son travail, déjà cité, sur *Paullinia Cupanà*, Peckolt affirme qu'il n'a pas trouvé de caféine dans les feuilles de cette plante. Il indique, cependant, la présence d'un autre produit cristallin, formé de petites aiguilles blanches, inodores. Chauffées sur une plaque de platine, celles-ci fondent et s'évaporent complètement. Ces cristaux sont insolubles dans l'éther de pétrole, dans le benzol et dans l'eau, peu solubles dans l'éther sulfurique, mais se dissolvent plus facilement dans le chloroforme, l'alcool et l'eau acidulée. Avec le chlorure d'or et l'iodure de potassium iodé ils donnent des précipités.

Weevers dans ses récentes recherches microchimiques, trouve de la caféine dans les feuilles jeunes et dans les feuilles adultes, mais ne la dose pas. D'après lui, la caféine disparaît dans les vieilles feuilles.

Nous avons fait un premier essai d'extraction, par la méthode de G. Bertrand, sur 10 gr. de feuilles finement moulues. A l'aspect des cristaux obtenus nous avons soupçonné, dès le premier abord, qu'il s'agissait d'une substance différente de la caféine. La façon dont elle se partageait entre le chloroforme et l'eau, à chaque extraction, nous a paru confirmer cette hypothèse.

Poids de matière recueillie dans la 1^{re} ex-

traction chloroformique 0,0745 gr.

Poids de matière recueillie dans la 2 ^e extraction chloroformique	0,0240 gr.
Poids de matière recueillie dans la 3 ^e extraction chloroformique	0,0150 gr.
Poids de matière recueillie dans la 4 ^e extraction chloroformique	0,0090 gr.
Poids de matière recueillie dans la 5 ^e extraction chloroformique	0,0040 gr.

Le pourcentage de ce produit, dans les feuilles, calculé sur la matière sèche, est de 1,58.

Afin d'entreprendre des essais d'identification, nous avons préparé une portion assez considérable de matière, en partant d'un kilo de feuilles.

Pour que l'extraction soit aussi complète que possible avec une si grande quantité de matière première, l'opération doit se faire dans des proportions, et avec des moyens, presque d'industrie. Nous avons employé environ 30 litres d'eau, en laissant chaque fois macérer pendant 2 heures. Les liquides sont filtrés sur un torchon et celui-ci est fortement pressé, chaque fois, dans une grande presse à main. Tous les extraits sont réunis dans une grande terrine à laquelle on ajoute du sous-acétate de plomb. On évite d'employer un excès de ce réactif, en prélevant des petites doses du liquide et en essayant à part la réaction du sous-acétate. Le précipité obtenu est filtré sur deux torchons superposés qu'on presse ensuite fortement, avec les plus grands soins pour éviter de faire éclater le tissu. On y arrive en serrant

la presse de très peu chaque fois. Aux liquides séparés on ajoute de l'acide sulfurique à 5 % pour précipiter l'excès de Pb. On évite tout excès d'acide par le moyen déjà indiqué. Le précipité de Pb SO_4 est relativement petit si on a bien opéré. On le sépare par simple filtration sur papier, en lavant à l'eau froide. Le liquide ainsi préparé, est mis à distiller, dans le vide, dans des ballons « pyrex » de 10 litres. Quand on réduit le volume du solvant, une partie du produit se dépose, mélangé avec Pb SO_4 et Ca SO_4 . On filtre. Le liquide est transféré dans une boule à décantation de 2 litres. Le résidu est traité par une grande portion d'eau en ébullition jusqu'à dissolution. La solution, filtrée à chaud, est soumise à un courant de H_2S . Le précipité de PbS qui se forme, est séparé par filtration rapide à chaud. La solution ainsi débarrassée du Pb est de nouveau concentrée dans le vide à un petit volume. Une grande partie du produit se dépose contaminée d'un peu de Ca SO_4 . On filtre. Le liquide est transféré dans la boule à décantation et le résidu est traité à l'alcool à 96° qui dissout la base organique et laisse le sulfate de calcium. Par évaporation de l'alcool nous avons obtenu 11,2 de matière fortement colorée en jaune-rougeâtre. Les liquides aqueux, agités un très grand nombre de fois avec du chloroforme, dans la boule à décantation, ont fourni 5,3 gr. de substance colorée en jaune. Ces deux fractions une fois séchées et pesées sont réduites en poudre fine et intimement mélangées. Le tout est ensuite transféré dans un flacon de 250 cm^3 de capacité et

soumis à une purification par dissolution fractionnée dans l'eau. On emploie chaque fois 100 cm³ de solvant et on agite le flacon, bien bouché, pendant 12 heures, en le faisant tourner dans une roue hydraulique. Après chacune de ces extractions on décante la solution sur un papier filtre, on mesure sa température, et on prélève 20 cm³ de liquide, qui sont évaporés dans une capsule tarée, afin de déterminer le coefficient de solubilité.

Nous avons séparé, par ce procédé, neuf fractions. Dès la 7^e le coefficient de solubilité est devenu sensiblement constant et le produit était parfaitement blanc. Les 6 premières après avoir été de nouveau réunies, ont été purifiées ensemble. Par dissolution dans l'eau en ébullition une couche de matières huileuses et résineuses s'est formée qui a été facilement séparée par filtration sur un petit filtre mouillé. La solution, encore colorée, fut chauffée avec du noir animal. Après filtration et évaporation, le résidu a été repris par l'alcool absolu. Une nouvelle portion de Ca SO⁴ s'est séparée. Les liqueurs alcooliques concentrées laissèrent se déposer une très faible portion d'un produit blanc, micro-cristallin, semblable à la substance pure obtenue à partir de la fraction 7 (0,02 gr. de produit). La solution alcoolique filtrée et évaporée, laissa un résidu de caféine presque pure (p. f. 233-234°), pesant 2,97 gr.

IDENTIFICATION DE LA BASE PURIQUE TROUVÉE
DANS LES FEUILLES DE P. CUPANA, A CÔTÉ DE LA CAFÉINE

Les fractions 7, 8 et 9, et le résidu total du fractionnement, furent réunis dans une même capsule tarée, et séchées dans le vide sulfurique. Le produit pur ainsi obtenu pesait 12,03 gr. C'est une substance blanche, d'un goût amer, cristallisée en petites aiguilles microscopiques, parfois réunies en faisceaux comme la caféine. Son coefficient de solubilité est extrêmement faible : à la température de 25° nous l'avons trouvé égal à 0,030 %, c'est-à-dire qu'à cette température 1 partie du produit, se dissout dans environ 3.300 parties d'eau. A chaud la solubilité devient sensiblement plus grande.

De même que la caféine, ce corps se sublime avant de fondre. Son point de fusion, mesuré au bloc Maquenne, avec toutes les précautions nécessaires, est 357-358°. Sa stabilité est très grande : il fond, à cette température, sans se décomposer.

Son pouvoir rotatoire, examiné dans différents solvants, est nul.

Un certain nombre de réactifs des alcaloïdes, essayés sur ce corps, en solution aqueuse, donnent des précipités en tout semblables à ceux de la caféine. Les réactions doivent être faites en présence d'acide chlorhydrique ajouté, parfois, en quantité assez forte. Dans ces conditions on obtient avec l'iodure de potassium iodé, un précipité brun très abondant ;

l'iodure double de bismuth et de potassium produit un précipité rouge-orange peu stable; l'acide phosphomolybdique donne un précipité blanc-jaunâtre; l'acide silicotungstique, en présence de 5 % de HCl, donne un précipité cristallin, teinté de jaune, assez soluble à chaud, mais insoluble à froid. Ce corps présente d'ailleurs la même réaction colorée que la caféine: chauffé jusqu'à siccité, au bain-marie, avec un oxydant énergique, tel que l'acide azotique, le chlore, le brome, etc..., il se produit de la cholestrophane ou acide diméthylbarabanique qui, au contact de l'ammoniaque, prend une belle coloration rouge-pourpre, par suite de la formation de murexide.

Cet ensemble de caractères prouve que le produit que nous avons trouvé dans les feuilles de *P. Cupana*, à côté de la caféine, est bien un dérivé de la purine. Afin de l'identifier nous avons procédé à la détermination de son poids moléculaire, à son analyse centésimale et au dosage des groupements méthyls.

DÉTERMINATION DU POIDS MOLÉCULAIRE PAR L'ACIDE SILICOTUNGSTIQUE

Ce procédé, applicable à tous les alcaloïdes, a été institué par G. Bertrand (5), en 1899. Il est basé sur le fait que les silicotungstates des bases organiques, de formule générale



laissent, par calcination, un résidu absolument fixe formé d'acides silicique et tungstique. Dans le cas de la caféine et de ses homologues, les silicotungstates qu'on obtient sont des sels acides de formule



Désséchés à $+30^\circ$, ils retiennent un certain nombre de molécules d'eau variable suivant l'alcaloïde considéré. En général l'eau se dégage en totalité à la température de 120° . Le poids moléculaire très élevé de l'acide silicotungstique, par rapport aux poids moléculaires des alcaloïdes, rend cette méthode d'une extrême sensibilité.

Nous avons préparé le silicotungstate de notre produit en le dissolvant dans de l'eau acidulée à l'acide chlorydrique et en ajoutant de l'acide silicotungstique à 5 % jusqu'à précipitation totale. Un précipité pulvérulent, légèrement jaunâtre, s'est immédiatement formé. Nous avons décanté le liquide surnageant et recueilli le précipité dans un petit tube à centrifuger, où il fut lavé, à plusieurs reprises, à l'eau acidulée. Le produit ainsi purifié fut transporté directement dans une étuve à 130° et séché à poids constant. Deux portions distinctes ont été prélevées, et calcinées séparément, dans un four à moufle. Les résidus, de couleur verdâtre, donnent respectivement:

$$1) \text{Si O}^2 + \text{Tu O}^3 = 82,90 \%$$

$$2) \text{Si O}^2 + \text{Tu O}^3 = 82,80 \%$$

D'après la formule générale des silicotungstates, on calcule les poids de base organique correspondants à ces résidus. Les nombres trouvés, divisés par 3 (parce qu'il s'agit d'un silicotungstate acide) donnent respectivement :

$$1) \text{ P. M. } = 183,5$$

$$2) \text{ P. M. } = 184,9$$

ANALYSE ÉLÉMENTAIRE

Après avoir constaté, par des essais qualitatifs, la présence de carbone, hydrogène et azote, dans la molécule du corps en étude, nous avons procédé à la détermination quantitative de ces éléments. Le carbone et l'hydrogène ont été dosés par la méthode de Gay Lussac, l'azote par la méthode de Dumas.

Ces déterminations analytiques, complétées par la détermination du poids moléculaire, permettent d'attribuer au corps qui accompagne la caféine dans les feuilles de Cupana, la formule $\text{C}^7 \text{H}^8 \text{N}^4 \text{O}^2$.

POIDS MOLÉCULAIRE

Trouvé	183,5; 184,9.
Calculé pour $\text{C}^7 \text{H}^8 \text{N}^4 \text{O}^2$	180.

COMPOSITION ÉLÉMENTAIRE

	Trouvé :		
	C %	H %	N %
I	47,30	4,60	31,30 ⁽¹⁾
II	47,28	4,55	
III	46,83	4,72	
VI	46,62	4,72	

Calculée pour $C^7 H^8 N^1 O^2$.

C %	H %	N %
46,6	4,4	31,1

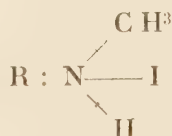
DOSAGE DES GROUPEMENTS CH^3

Les substances de la série purique qui se trouvent chez les plantes sont, en général, des dérivés dans lesquels existent des radicaux méthylés. Il est donc important de doser les groupements CH^3 que peut contenir la base que nous avons extraite.

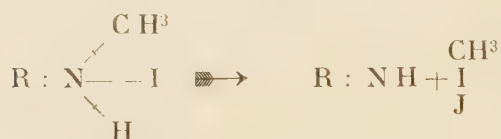
Dans les purines méthylés le groupement CH^3 est toujours directement lié à l'azote sous la forme d'un radical méthyl-imide. Par action de l'acide

(1) A titre comparatif nous avons dosé l'azote, dans la même substance, par la méthode de Kjeldahl. Ces résultats sont toujours très faibles et n'offrent aucune régularité. Cependant, par addition d'un peu de saccharose, la transformation de l'azote en ammoniacque devient totale, et les résultats sont uniformes. Nous avons trouvé par ce procédé N : 31,36 %.

iodhydrique concentré ces bases méthylées forment des iodhydrates de formule générale



Lorsqu'on les chauffe entre 200 et 300°, ces iodhydrates perdent de l'iodure de méthyle suivant l'équation



On peut ainsi doser celui-ci.

La méthode de Zeisel (119) pour la détermination des méthoxyles n'est pas applicable, sans quelques modifications, au dosage du groupement méthylimide. Celui-ci, en effet, est si stable qu'on n'arrive pas à le détruire par le procédé de Zeisel. D'importants perfectionnements introduits par Herzig et Hans Meyer dans le procédé de cet auteur ont permis, cependant, d'instituer une technique qui donne des résultats très satisfaisants (44, 45, 46).

L'appareil de dosage se distingue essentiellement de celui de Zeisel par la forme du récipient dans lequel la substance est chauffée. Ce récipient se compose de deux petits ballons *a* et *b* (fig. 1) qui com-

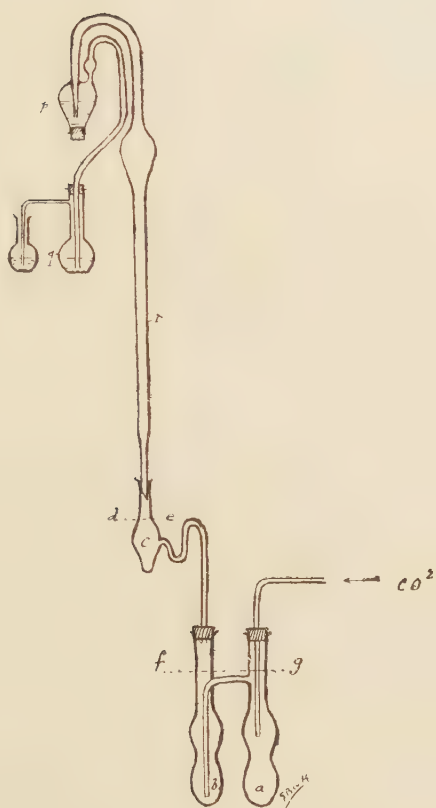


Fig.1 Appareil pour le dosage
du méthylimide -

muniquent entre eux, et d'une allonge supplémentaire *c*. La substance à examiner est mise dans le ballon *a* (0,5 à 1,5 gr. de matière) et l'on verse dessus 10 cm³ d'acide iodhydrique pur, fumant. On ajoute, en plus, 2 à 3 gr. d'iodure d'ammonium. A l'allonge *c* est fixé un appareil réfrigérant *r*. Nous avons employé avec un très bon résultat le réfrigérant à air, de H. Meyer (fig. 1). Un tube en connexion avec le ballon *a* conduit le gaz carbonique qui doit circuler dans l'appareil pendant toute l'opération. Les ballons *a* et *b* plongent dans un bain de limaille de cuivre, où l'on pose aussi un thermomètre.

On chauffe, d'abord, doucement. L'acide iodhydrique en excès distille du ballon *a* dans le ballon *b* et passe, ensuite, de celui-ci dans l'allonge *c*. L'iodhydrate resté dans le ballon *a* est alors chauffé fortement. Les vapeurs dégagées, entraînées par le courant de gaz carbonique, barbotent dans l'acide iodhydrique condensé dans l'allonge, traversent le réfrigérant, barbotent dans l'ampoule *p* contenant 0,5 gr. de phosphore rouge en suspension dans l'eau et se rendent finalement dans un ballon de 80 cm³ contenant 50 cm³ d'une solution alcoolique de nitrate d'argent. De là elles passent dans un second ballon de 60 cm³ contenant 25 cm³ de la même solution qui sert de contrôle. Aussitôt que tout l'acide iodhydrique se condense dans l'allonge, la solution de nitrate d'argent commence à se troubler. A partir de ce moment la manipulation se fait exactement comme dans le procédé de Zeizel.

Le succès du dosage dépend surtout de la pureté et de la concentration de l'acide iodhydrique employé. Nous avons été obligés d'en préparer une certaine portion parce que l'acide du commerce est absolument inutilisable. A cette fin nous avons em-

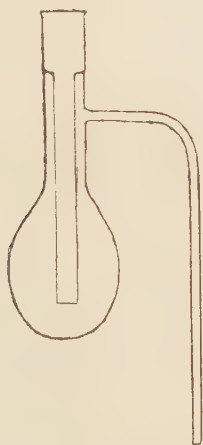


Fig. II

ployé l'appareil de G. Bertrand, représenté dans la figure 2. qui permet d'obtenir très facilement l'acide iodhydrique fumant et pur.

On met, dans le ballon, de l'iode bi-sublimé, et on ajoute peu à peu la quantité calculée de phosphore rouge et d'eau, préalablement mélangés. Il se forme,

à froid, de l'acide orthophosphorique qui reste dans le ballon, et de l'acide iodhydrique qui distille par le tube recourbé. On le recueille dans une quantité calculée d'eau de façon qu'il reste fumant. Dans un temps très court on prépare ainsi un réactif extrêmement pur.



Avant de chercher à doser les groupements CH^3 dans la substance en étude, nous avons fait des essais de la méthode, à blanc, et des essais avec la caféine extraite et purifiée par nous. Les essais à blanc réalisés avec de l'acide iodhydrique du commerce vendu comme pur, ont toujours donné de l'iodure d'argent et un peu d'argent métallique. Les mêmes essais faits avec l'acide iodhydrique préparé par nous n'ont rien donné.

Le dosage des groupes CH^3 contenus dans la caféine nous a fourni des résultats strictement concordants avec la théorie. L'élimination de tous les groupements CH^3 de la molécule ne se fait pas, cependant, d'une seule fois. Il faut répéter la même opération trois ou quatre fois, dans chaque dosage; aussitôt que la formation d'iodure d'argent paraît arrêtée, on laisse refroidir l'appareil. On sépare le réfrigérant de l'allonge, et on penche l'ensemble du récipient *abc* de façon que l'acide iodhydrique coule de *c* en *b*; par aspiration on le fait ensuite passer en *a*. En même temps on rejoint le réfrigérant

et l'allonge. L'appareil se retrouve dans les conditions initiales. On change la solution alcoolique de nitrate d'argent et on recommence à chauffer.

Voici, pour la caféine extraite des feuilles de P. Cupana, les résultats que nous avons trouvés. L'opération a été faite sur 0,1 gr. de matière sèche.

Poids d'iodure d'argent obtenu, après lavage à l'eau azotique bouillante, et séchage à l'étuve à 120° :

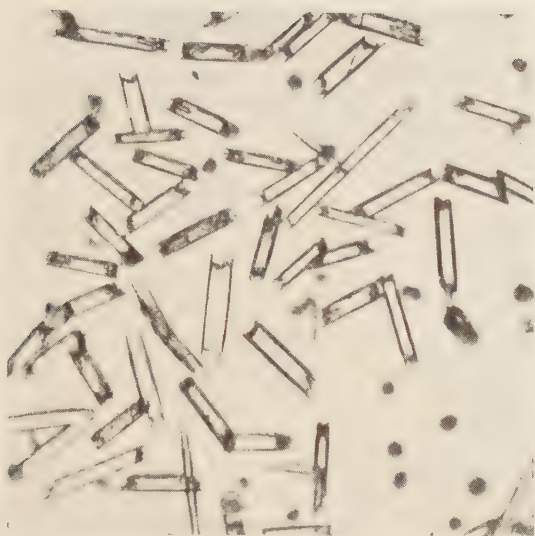
1 ^{re} opération	0,2842 gr.		
2 ^e opération	0,0587 gr.		
3 ^e opération	0,0141 gr.		
4 ^e opération.....	nihil.		
Ag I {	Trouvé : 0,357 gr.	CH ³ {	Trouvé : 22,8 %
	Calculé : 0,362 gr.		Calculé : 23,1 %

En opérant, dans les mêmes conditions, sur 0,1 gr. du produit que nous essayons de caractériser, les valeurs trouvées ont été les suivantes :

1 ^{re} opération	0,2230 gr. de Ag I
2 ^e opération	0,0355 gr. de Ag I
3 ^e opération.....	nihil.
Ag I {	trouvé 0,258
	calculé pour une diméthylxanthine... 0,261
	(C ⁷ H ⁸ N ⁴ O ²).
CH ³ {	trouvé 16,46 %
	calculé pour une diméthylxanthine. 16,68 %
	(C ⁷ H ⁸ N ⁴ O ²).

Le faisceau des résultats obtenus nous permet de conclure que la base organique que nous avons extraite des feuilles de *P. Cupaná* avec la caféine, est une diméthylxanthine. Le groupe des diméthylxanthines est formé, cependant, de trois isomères : la paraxanthine, la théophylline, et la théobromine. La comparaison des propriétés physiques de ces trois bases avec celles du produit que nous avons isolé permettra de fixer en définitive l'identité de celui-ci. Nous avons pris comme terme de comparaison le point de fusion. D'après les données de Beilstein, il est, pour la Paraxanthine 295-296°; pour la Théophylline, 264°; pour la Théobromine, 329-330°. Ces valeurs varient d'ailleurs, sensiblement, d'un auteur à l'autre. Le point de fusion de notre produit, déterminé au bloc Maquenne, est, cependant, beaucoup plus élevé: 357-358°. Dans ces conditions nous avons pris le parti de déterminer, par le même procédé, les points de fusion des trois diméthylxanthines. Ceci nous a permis de constater, sur un échantillon du commerce soigneusement purifié par nous, que le point de fusion de la théobromine est exactement 357-358°. Un mélange de celle-ci avec le produit que nous avons isolé fond également à cette température.

La diméthylxanthine que nous avons trouvée dans les feuilles de *Paullinia Cupana*, à côté de la caféine, est donc la théobromine.



Cristaux de caféine obtenus par sublimation
g : 400 d



Cristaux de théobromine obtenus par sublimation
g : 400 d.

SÉPARATION QUANTITATIVE DE LA THÉOBROMINE
ET DE LA CAFÉINE

Les fractionnements que nous avons faits prouvent que ces deux bases peuvent être quantitativement séparées d'après leur différence de solubilité dans l'eau. Par ce procédé nous avons trouvé dans les feuilles de *P. Cupana* :

Théobromine (p. f. 357-358°) 1,20 %

Caféine (p. f. 235-236) 0,38 %

Bien d'autres moyens de séparation de ces deux corps ont été proposés, mais, pour la plupart sans succès. En 1921, Raymond Wadsworth (113) a institué une méthode qui mérite cependant d'être rappelée. L'auteur emploie comme agent d'extraction le tétrachloréthane qui est un des meilleurs solvants de la théobromine (100 gr. de tétrachloréthane dissolvent à 15°, 0,09 gr. de théobromine) et qui dissout aussi bien la caféine. Pour séparer les deux bases réunies dans le résidu de l'extraction, il se sert de l'éther dans lequel la caféine se dissout dans la proportion de 0,3 % et la théobromine dans une proportion cent fois plus faible : 0,003 %.

10 grammes de matière sont mélangés dans une capsule avec 2-3 grammes de magnésie récemment calcinée. On humecte avec 15 cm³ d'eau et on chauffe au bain-marie pendant une demi-heure. Le mélange est ensuite trituré et transféré dans un ballon de 250 cm³; on ajoute 150 cm³ de tétrachloréthane, et on

laisse bouillir pendant une demi-heure sous un réfrigérant à reflux. On filtre à chaud dans un autre ballon et on fait une nouvelle extraction de la matière au tétrachloréthane. Après quatre extractions les liquides réunis sont distillés. Au résidu on ajoute, après refroidissement, 60-70 cm³ d'éther, on agite bien, et on laisse reposer pendant la nuit. Le précipité est recueilli sur un filtre taré, lavé à l'éther, séché et pesé. Au poids trouvé on ajoute 0,04 gr. correspondant au poids de théobromine dissoute dans l'éther.

Malheureusement Wadsworth ne donne aucune indication sur le degré de pureté des produits qu'il sépare par son procédé.

FLEURS

Le produit obtenu par épuisement des fleurs d'après la méthode de G. Bertrand est constitué de théobromine pratiquement exempte de caféine. Par fractionnement à l'eau aucune portion de celle-ci n'a pu être décelée, toutes les fractions présentant les caractères spécifiques de la théobromine pure. Il nous paraît cependant, d'après un examen microscopique des cristaux, que la caféine s'y trouve à l'état de traces.

Théobromine	1,54 %
Caféine.....	traces.

L'analyse du pédicelle des inflorescences a fourni aussi de la théobromine pure dans la proportion de 0,38 %.

TIGE

La proportion d'écorce et de bois dans la tige de P. Cupana séchée à l'air est sensiblement la même :

100 gr. de tige fournissent $\left\{ \begin{array}{l} 52 \text{ gr. d'écorce.} \\ 48 \text{ gr. de bois.} \end{array} \right.$

Nous avons examiné séparément l'un et l'autre.

Ecorce :

Théobromine	0,98 %
Caféine	0,17 %

Bois :

Théobromine	nihil.
Caféine	0,19 %

La présence de bases xanthiques dans le bois des tiges et des racines des plantes à caféine, est souvent mise en doute. Cependant Lohmann (65), dans ses recherches sur le maté, a trouvé des doses appréciables de caféine dans le bois :

0,57 % dans le bois des tiges (I. Paraguayensis) ;
0,32 % dans le bois des racines (I. Parayensis).

Weevers (116), répétant les déterminations de Lohmann, arrive à un résultat opposé. D'après lui,

d'ailleurs, aucune plante à caféine (*Coffea*, *Thea*, *Theobroma*, *Kola*, *Paullinia*) ne renferme cette base dans le bois: Les résultats de nos dosages ne s'accordent nullement avec cette opinion de Weevers, en ce qui concerne *Paullinia Cupana*.

RACINES

La proportion d'écorce et de bois dans la racine est la suivante :

Ecorce	61,4 %
Bois	38,6 %

Aussi bien dans l'une que dans l'autre nous avons trouvé de la caféine, mais la théobromine est absente dans les deux.

Ecorce :

Théobromine	nihil.
Caféine	1,74 %

Bois :

Théobromine	nihil.
Caféine	0,27 %

DISTRIBUTION DE LA CAFÉINE ET DE LA THÉOBROMINE DANS PAULLINIA CUPANA

	Graines		Fleurs	Feuilles	Tiges		Racines	
	Tégument	Amande			Ecorce	Bois	Ecorce	Bois
Caféine...	2,29 %	4,40 %	Traces	0,38 %	0,17 %	0,19 %	1,74 %	0,27 %
Théobromine...	nihil	nihil	1,54 %	1,20 %	0,98 %	nihil	nihil	nihil

La composition de *P. Cupana* en principes actifs est ainsi déterminée. D'après sa teneur en caféine et en théobromine elle est certainement, de toutes les plantes connues, la plus riche en bases xanthiques. Sa valeur pharmacologique et alimentaire est donc extrêmement grande. Mais du point de vue purement scientifique son intérêt n'est pas moindre, car elle constitue un champ d'étude qui peut devenir des plus féconds dans l'analyse et l'interprétation du rôle physiologique des alcaloïdes.

Les résultats numériques inscrits dans le tableau précédent se rapportent à des organes adultes. Ils constituent un point de départ pour des recherches complémentaires sur les variations quantitatives et les migrations des bases xanthiques au cours du développement de *Paulinnia Cupana*. Ces recherches d'ordre dynamique demandent, cependant, d'être faites sur place, dans les régions mêmes de culture; autrement elles ne permettent d'aboutir à aucun résultat précis.

CHAPITRE II

LE ROUGE DE GUARANA

Tous les organes de *Paullinia Cupana*, et plus spécialement l'amande et le tégument des graines, fournissent, en quantité appréciable, du « rouge de guarana ». Y a-t-il de relation bio-chimique entre ce produit et les bases xanthiques présentes, elles aussi, dans toutes les parties de la plante ? Un parallélisme, au moins, il est certain qui existe : les organes les plus riches en bases xanthiques sont aussi ceux qui fournissent le plus de colorant rouge. Mais, ce qui est important d'établir, c'est si ces substances se trouvent liées dans une même combinaison. A propos du « rouge de guarana » se posent les mêmes questions qui n'ont pas encore été résolues pour le « rouge de kola » et le « rouge de cacao ». Proviennent-ils, comme d'aucuns l'affirment, d'un hétéroside préexistant qui les renfermerait à côté des bases xanthiques et du glucose ? Le schéma déjà proposé maintes fois pour exprimer dans ce sens la formation du « rouge

de kola » et du « rouge de cacao » est bien connu. Sera-t-il applicable au « rouge de guarana » ?



Nous avons entrepris, sous la direction de M. le Professeur Gabriel Bertrand, l'étude détaillée de cette question. Elle fait l'objet d'un travail qui sera publié à part. Ici nous n'en dirons donc, que quelques mots, pour préciser l'état actuel de la question et faire ressortir les analogies qui rattachent le « rouge de guarana » au « rouge de kola » et au « rouge de cacao ».

De même que ces derniers, le « rouge de guarana » est formé de composés polyphénoliques de la nature des phlobaphènes. Il se présente comme une substance amorphe, d'une saveur astringente, à peine soluble dans l'eau bouillante, très peu soluble dans l'éther, insoluble dans le chloroforme, la benzine, et l'éther de pétrole; très soluble, au contraire, dans l'alcool éthylique, l'alcool amylique, l'alcool butylique et l'acétone, un peu moins dans l'acétate d'éthyle.

A côté de la matière rouge il y a dans le guarana formation d'une matière brune qu'il importe aussi de connaître. L'une et l'autre proviennent d'une substance mère incolore, soit par fermentation spontanée, soit par des procédés artificiels. Plusieurs raisons portent à croire que la matière brune est un produit intermédiaire entre la substance mère incolore et le « rouge de guarana ». Ces trois produits peuvent

d'ailleurs se trouver simultanément dans le même tissu.

Il est très important de déterminer la relation qui existe entre le pourcentage de caféine *libre*, dans les organes de *P. Cupana*, et la teneur de ceux-ci en matière rouge préformée. La connaissance de ce rapport ne manquera pas de jeter une grande lumière sur l'étude de cette question. Nous poursuivons des recherches sur ce point.

Le « brun de guarana » et la substance mère incolore (nous l'appelons ainsi pour ne pas anticiper sur sa nature chimique) se transforment facilement en « rouge de guarana » quand on les chauffe avec un peu d'acide chlorhydrique en solution alcoolique. Rien n'est plus facile de constater. On réduit en poudre fine une partie quelconque de *P. Cupana* et on la traite par de l'alcool neutre, dans un appareil Soxhlet, jusqu'à ce que le solvant coule tout à fait incolore. La même poudre est ensuite soumise à des extractions à l'alcool chlorhydrique : le rouge de guarana reparaît immédiatement.

Au cours de nos essais nous avons préparé, par divers procédés, le « rouge de guarana » :

1) En faisant l'extraction de la caféine par l'eau on entraîne, en même temps, une certaine portion de matières colorantes en solution. Par addition de sous-acétate de plomb elles précipitent entièrement. On filtre et on lave soigneusement le précipité obtenu à l'eau chaude. Une fois bien lavé il est desséché et réduit en poudre fine. Sur une petite portion on dose

sa teneur en Pb. On le délaye ensuite dans un peu d'alcool absolu et on ajoute de l'acide chlorhydrique titré en quantité légèrement inférieure à celle nécessaire à la précipitation de tout le plomb sous forme de Pb Cl_2 . La matière colorante est mise en liberté et entre aussitôt en solution dans l'alcool. On filtre et on ajoute à la solution alcoolique une grande proportion d'éther. Le « rouge de guarana » précipite presque quantitativement. On le sépare par filtration, sur Gooch, et on le redissout dans l'alcool afin de le purifier. Par addition d'éther de pétrole il précipite, on décante le liquide surnageant et on le dissout de nouveau dans une petite quantité d'alcool. Finalement on l'insolubilise par addition d'eau distillée à la solution alcoolique. On le recueille et on le sèche.

2) La poudre de guarana bien moulue et sèche est longuement traitée dans un percolateur à l'éther sulfurique, d'abord, puis au chloroforme, de façon à enlever toute trace de chlorophylle, de matières grasses et de bases xanthiques libres. On procède ensuite à l'extraction de la matière colorante par l'alcool à 95°. Par addition d'eau à la solution alcoolique on insolubilise le « rouge de guarana » qui précipite à l'état amorphe.

3°) Dans le même appareil, la poudre, après traitement à l'éther et au chloroforme, est épuisée à l'éther acétique. L'extrait obtenu est distillé dans le vide. Le « rouge de guarana » se dépose; on le reprend par l'alcool et on le précipite par l'eau.

Les divers échantillons ainsi préparés sont soumis à des précipitations et à des dissolutions fraction-

nées, et chaque fraction est examinée séparément.

Il est très important de tenir compte, dans l'étude du « rouge de guarana », de la présence d'une catéchine dans *P. Cupana*. Elle a été séparée successivement par Schär, Kirmsse, Goris et Nierenstein. Son existence dans cette plante nous paraît un fait absolument certain.

Le « rouge de kola », isolé par Heckel et Schlagdenhauffen (40, 41, 42, 43) des noix de kola, et le « rouge de cacao » séparé des fèves de *Théobroma* par Hilger (47) et Lazarus (61), sont à plusieurs points de vue comparables au « rouge de guarana » que nous avons retiré des divers organes de *P. Cupana*.

D'après ses recherches sur le rouge de kola, Knebel (53, 54) fut amené à le considérer comme un dérivé d'un glucoside de la caféine (kolanine) et lui attribua la formule $C^{14}H^{13}(OH)^5$. Un ferment existant dans les noix de Kola aurait la propriété de le mettre en liberté par dédoublement du glucoside. Schweitzer (94) soutient la même opinion, et prétend prouver que les proportions de caféine et de glucose dans la kolanine sont en rapports simples, et que pour une molécule de caféine et de rouge de kola, il y a trois molécules de glucose. Mais G. François (31), Knox et Prescott (55) et Dieterich (18) mettent en doute l'individualité chimique de la kolanine. Carles (14) se refuse de voir en cette substance un glucoside parce que, s'il est vrai qu'elle fournit de la caféine, il n'y a jamasi pu déceler aucune trace de glucose.

Le « rouge de kola » est aussi facile à préparer

que le « rouge de guarana ». Knebel l'obtient à l'état pur en épuisant directement la poudre de kola par l'alcool. La solution alcoolique est filtrée, puis distillée dans le vide et évaporée à siccité. On épuise l'extrait par le chloroforme dans un appareil Soxhlet. Le résidu ainsi débarrassé de la caféine libre, est mélangé avec du sable et épuisé avec de l'eau jusqu'à ce que l'eau passe colorée. On épuise ensuite à l'alcool et on évapore à siccité.

D'après E. Perrot et Goris (82) la nature glucosidique du « rouge de kola » est plus que douteuse et son individualité chimique n'existe pas. Ils en ont séparé, par contre, deux composés phénoliques du groupe des catéchines, la kolatine et la kolatéine, qui se trouvent dans la plante combinés avec la caféine.

Sur la nature du « rouge de cacao » les données existantes ne sont pas plus précises. Hilger et Lazarus lui attribuent la formule $C^{17}H^{12}(OH)^{10}$ et, d'après Schweitzer, il se trouve dans le cacao sous la forme d'un glucoside de caféine et de théobromine. Quand la graine est desséchée les ferments diastasiques qu'elle renferme détruisent le glucoside et mettent en liberté les bases xanthiques, le rouge de cacao et du glucose. Toutes ces substances peuvent être décelées en présence d'une partie du glucoside non détruit, devenu d'une couleur brune. L'hydrolyse n'est complète qu'en chauffant à l'ébullition les graines dégraissées et écrasées, avec des acides dilués. L'existence du glucoside de Schweitzer (cacaonine), analogue à la kolanine de Knebel, n'a pu être jusqu'ici confir-

mée. De même aucune précision n'a été obtenue sur la nature du « rouge de cacao » lui-même. On le prépare d'après un procédé qui est applicable également au « rouge de kola » et au « rouge de guarana » : les graines sont dégraissées par l'éther de pétrole et soumises à l'extraction alcoolique. Le « rouge de cacao » passe en solution, on concentre les extraits alcooliques et on précipite par l'acétate de plomb. Le précipité est mis en suspension dans l'alcool et décomposé par l'acide sulfureux. Au cours de cette opération le « rouge de cacao » rentre en solution. On filtre et on précipite la matière colorante par l'acide chlorhydrique concentré. Le « rouge de cacao » obtenu de cette façon, à l'état pur, forme une poudre d'un beau rouge un peu violet, dont la solution alcoolique devient plus claire par les acides minéraux, tandis que les alcalis la colorent en jaune et ensuite la décomposent. A côté de la matière rouge il se forme toujours dans le cacao, comme dans le guarana, une matière brune (25). La première est très soluble dans l'alcool et a une couleur rouge très vive en milieu acide, une couleur violette en milieu neutre, et verte en milieu faiblement alcalin. La seconde est peu soluble dans l'alcool, mais bien soluble dans l'eau légèrement alcaline, avec une couleur brun foncé.

Dans des recherches récentes on est arrivé également à séparer des graines de cacao un composé phénolique du groupe des catéchines. D'après Ultée et Van Dorssen (110) sa formule empirique serait $C^{16}H^{16}O^6$ Adam, Hardy et Nierenstein (1), ayant

repris son étude, lui attribuent, cependant, la formule $C^{15}H^{14}O^6$. Le catéchine du cacao est, d'après ces auteurs, la même catéchine *l* de l'acacia. Elles ont en effet le même point de fusion (229°), le même pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = -69$ et forment des dérivés penta-acétylés identiques : p. f. 151° .

Il est bien établi que dans les plantes à caféine les bases xanthiques sont combinées avec des corps divers, à fonctions phénoliques. Dans *Paullinia Cupana*, *Théobroma*, et *cola acuminata*, ces corps phénoliques font partie du groupe des catéchines. Il reste, cependant, à savoir si leurs combinaisons sont de nature glucosidique, et de quelle façon elles donnent naissance aux matières rouges et aux matières brunes que nous avons sommairement indiquées, et enfin, quelle est la nature chimique de ces matières colorantes elles-mêmes.

CHAPITRE III

Constitution chimique et histoire physiologique de la caféine et de la théobromine

La découverte de la caféine et de la théobromine dans les divers organes de *Paullinia Cupana* est venue confirmer de nouveau ce fait remarquable que, dans toutes les parties du monde, depuis la plus haute antiquité, les végétaux contenant ces bases xanthiques, ont été instinctivement employés, soit sous forme de boisson, soit sous forme de médicament. L'importance de ces deux substances par rapport à l'homme est donc énorme et justifie pleinement les nombreuses études dont ces alcaloïdes ne cessent d'être l'objet. Cependant ce qui nous intéresse ici c'est surtout l'importance de ces composés par rapport à la plante elle-même, c'est-à-dire leur signification biologique dans le végétal qui les produit.

Avant d'exposer l'état actuel de cette question il convient de rappeler à grands traits l'histoire chimique de ces deux bases.

La caféine a été découverte par Ferd. Runge (88), dans le café, en 1820. Peu après, Robiquet, d'un côté, Caventou et Pelletier d'un autre, la rencontraient à leur tour dans cette plante. Elle a été extraite, ensuite, de la pâte de guarana par Th. Martius (1826) sous le nom de guaranine, et des feuilles de thé par Oudry (1827), sous le nom de théine (79). Au commencement de 1838, Jobst (50) reconnaît le premier, d'après des analyses élémentaires, que *caféine* et *théine* sont une seule et même substance. Et en 1840, Berthemot et Deschastelus identifient par le même procédé la guaranine avec la caféine. A ces trois plantes, reconnues comme renfermant de la caféine, vint bientôt s'ajouter une quatrième. Plusieurs fois déjà l'attention avait été attirée par le *maté* ou thé du Paraguay, *Ilex Paraguayensis*, servant à la préparation d'une boisson dont les effets sont analogues à ceux de l'infusion de thé. Trommsdorff (106) et autres avaient déjà étudié le maté sans être parvenus à déterminer son principe actif, lorsque Lloyd Bullock, à Londres, y découvrit la caféine. En 1843, Stenhouse (100) confirme par de nouvelles recherches la découverte de Bullock et en même temps dose la caféine que renferme le maté.

En 1865, Danniell (16) et Attfield (2) découvrent la même base dans la noix de kola, et à peu près à la même époque Scharling l'extrait d'une Nyctagynacée brésilienne, le *Neea theifera* Oersted (78).

En 1883, Schmidt (92) signale la présence de la caféine dans les graines de cacao, et Shimoyana (95) dans les graines de *Sterculia Platanifolia*. Venable,

examinant en 1885 une variété d'Ilex, I Cassine L., qui existe dans la Virginie aux Etats-Unis, y découvre également une certaine quantité de caféine (111). Tout récemment cette base fut signalée dans les graines de *Copernicia Cerifera*, et Michiels et Denis l'ont dosée dans les feuilles, l'écorce et le bois du Yocoo (74). Weevers (115) l'a signalée ensuite dans les divers organes de *P. Cupana* où enfin nous l'avons dosée.

La théobromine paraît beaucoup moins répandue. Elle a été découverte en 1841 par Woskressensky (118) dans les semences de cacao. En 1884, Heckel et Schlagdenhauffen (40, 41, 42, 43) l'isolèrent des noix de kola et depuis lors on ne l'avait retrouvée dans aucun autre végétal. Nous venons de la caractériser et de la doser dans *Paullinia Cupana*.

Au point de vue de leur composition chimique la caféine et la théobromine ont été l'objet d'un grand nombre de travaux que nous rappellerons très sommairement et qui se clôturent par les recherches décisives de Fischer.

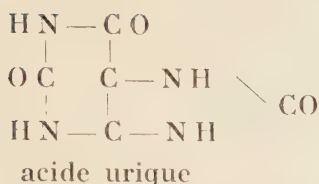
La caféine a été analysée pour la première fois, en 1824, par Dumas et Pelletier (20); en 1832, Liebig et Pfaff ont établi sa composition exacte (63).

Au cours de ses recherches sur le maté, Stenhouse (99) signala le premier la parenté de la caféine avec l'acide urique. « Si l'on chauffe la théine, observe-t-il, avec un peu d'acide azotique fumant jusqu'à dessiccation, il reste une masse jaune foncé qui, mise en contact avec une goutte d'ammoniaque, se colore immé-

diatement en rouge pourpre; cette teinte ne se laisse pas distinguer de celle qu'on obtient, par le même procédé, avec l'acide urique. » Ce produit, doué d'une magnifique coloration rouge, est en effet le même que William Prout (84) a obtenu avec l'acide urique et auquel Wöhler et Liebig (117) ont donné le nom de murexyde.

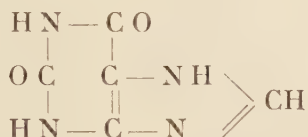
Le rapprochement ébauché par Stenhouse, et fortifié par les travaux de Rochleder (85), fut enfin définitivement démontré par les recherches de E. Fischer, Brugnatelli (12) d'une part, Foureroy et Vauquelin (29) d'autre part, avaient caractérisé l'un l'alloxane, les autres l'urée, parmi les produits de décomposition de l'acide urique. Fischer traitant la caféine par l'eau de chlore l'a dédoublée en diméthylalloxane et monométhylurée. Cette analogie de dédoublement a apporté la preuve complète de l'intime parenté de la caféine et de l'acide urique.

Déjà en 1838, Wöhler et Liebig (117) avaient établi la composition d'un produit découvert vingt ans plus tôt par Marcet (103) et qu'ils reconnurent ne différer de l'acide urique que par un atome d'oxygène en moins; ce corps était la xanthine. Fischer, par méthylation de cette substance, obtient la caféine, caractérisée par lui comme une triméthylxanthine. La formule de structure de cette base repose toute entière sur la formule de l'acide urique établie avec une intuition admirable par Medicus, alors qu'aucun procédé de synthèse de ce corps n'avait encore surgi.

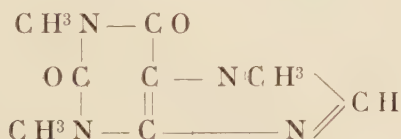


Cette formule, proposée par Médicus (72), en 1875, fut reconnue par Fisher, dix ans plus tard, comme indiscutablement vraie (27).

En conséquence, la xanthine fut représentée par une formule identique à celle-là, mais avec un atome d'oxygène en moins :

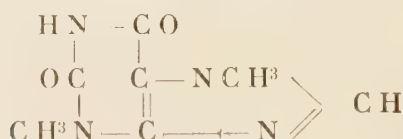


Et la caféine, caractérisée par Fischer comme une 1. 3. 7. triméthylxanthine, prit la formule suivante :



La théobromine prit bientôt place à côté des composés précédents. Dès 1847 Glasson (33) montre, en effet, qu'elle donne naissance par oxydation à un homologue de l'alloxane, et en 1861 Strecker (102) la transforme par méthylation en caféine. Vingt-et-un ans plus tard E. Fischer (26) parvient à démontrer

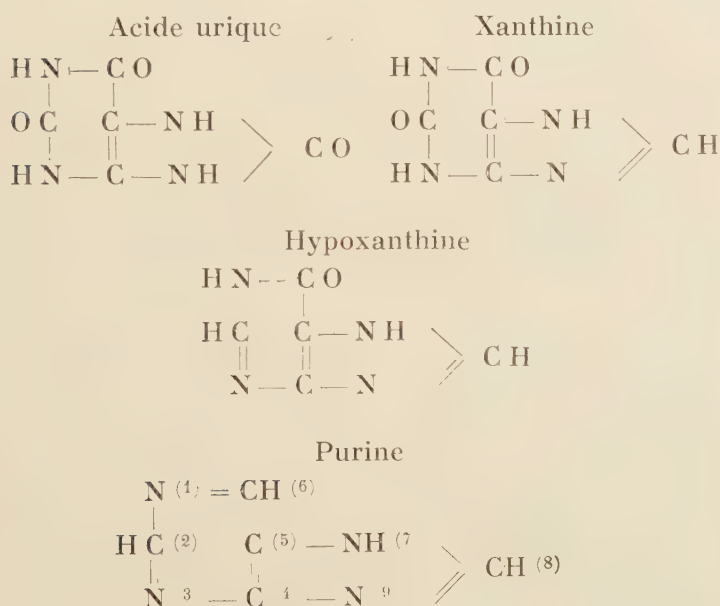
que la théobromine est la diméthylxanthine (3, 7) et qu'elle se décompose par l'eau de chlore en monométhylurée et monométhylalloxane. Sa formule est ainsi clairement établie :



La profonde analogie constitutionnelle de ces deux bases jette une grande lumière sur leur fréquente coexistence dans les végétaux et sur la similitude de leurs actions physiologiques. La xanthine forme, d'ailleurs, par ses dérivés méthylés, une véritable famille de composés naturels extrêmement importants. Deux dérivés monométhylés, 1, méthylxanthine et 7, méthylxanthine ou hétéroxanthine, ont été trouvés dans l'urine par Salomon et Kruger (90). Deux dérivés diméthyles isomères existent dans le règne végétal. Ce sont la théophylline ou 1,3, diméthylxanthine extraite des feuilles de thé et la théobromine ou 3-7 diméthylxanthine retirée des graines du cacaoyer. Un troisième isomère, la paraxanthine ou 1-7 diméthylxanthine, fut découvert aussi dans l'urine, d'abord, par Thudichum en 1879, et plus tard par G. Salomon (89). Enfin, la caféine ou 1-3-7 triméthylxanthine est le dérivé le plus important de tous, et le plus répandu chez les végétaux.

Tout ce groupe de composés xanthiques fut ratta-

ché par E. Fischer à un type structural plus simple, commun en même temps à d'autres composés : *la purine*. Cette substance, hypothétiquement prévue par Fischer en 1884, par dégradation régulière de l'oxygène des composés xanthiques, jusqu'à disparition totale, fut obtenue par lui en 1898. Le simple examen de sa formule et son rapprochement avec celle des principaux composés de la série xanthique, justifient suffisamment la coordination proposée par Fischer (28) :



La purine est un corps simplement ternaire, sans oxygène, d'où, par introduction successive d'un, deux ou trois atomes de ce métalloïde, on fera dériver tour

à tour l'hypoxanthine, la xanthine et l'acide urique. A la série de la purine se rattachent encore d'autres substances dont quelques-unes, comme la guanine et l'adénine, sont naturelles, et d'autres, sont des produits synthétiques halogénés, oxygénés, sulfurés, aminés, alcoylés, etc... Tous les corps de ce groupe connus jusqu'à ce jour, peuvent se ranger en sept classes principales :

1°) Purines (comprenant la purine et ses homologues alcoylés ou phénylés).

2°) Oxypurines.

3°) Aminopurines.

4°) Amino-oxypurines.

5°) Thiopurines.

6°) Hydro-oxypurines.

7°) Hydro-aminopurines.

Les dérivés méthylés de la xanthine deviennent, dans ce système de classification, des méthyl-dioxypurines.

Sans nous appesantir sur les détails des propriétés physiques et chimiques de la caféine et de la théobromine, assez connues, essayons de dégager de l'état actuel de nos connaissances quelques traits relatifs à leur *histoire physiologique*, c'est-à-dire, à leurs rapports biologiques avec les végétaux producteurs.

D'abord, comment ces deux bases se distribuent-elles dans les plantes qui les renferment ?

Jusqu'ici toutes les tentatives de localisation microchimique de ces substances ont échoué. Aucune des méthodes successivement proposées par Molisch (75)

Hanausek (39), Gaucher (32), Behrens (3), Clautriau (15), Suzuki (104) et d'autres, ne permet d'obtenir une localisation vraie. On ne dispose donc, pour l'étude de la répartition de la caféine et de la théobromine dans les diverses parties des plantes, que de l'analyse chimique ordinaire. Les données que l'on trouve à ce sujet, éparpillées dans la littérature, ne doivent être acceptées, d'ailleurs, qu'avec beaucoup de circonspection.

Soit dans les recherches simplement qualitatives, destinées à établir la présence ou l'absence d'alcaloïde dans un organe déterminé, soit dans les déterminations quantitatives les résultats indiqués varient très souvent d'une manière surprenante, d'un auteur à l'autre. Voici, d'abord, quelques exemples du premier cas : Gaucher (32), dans ses recherches sur *Coffea Arabica* L., ne trouve pas de caféine dans les tiges; Van Romburgh et Lohmann (86) y dosent, cependant, 0,59 et 0,19 % de cette bases. Lohmann, dans ses recherches sur le maté (65), dose dans le bois de la racine et dans le bois de la tige, respectivement 0,39 et 0,57 % de caféine; Weevers déclare qu'il n'y a pas trouvé la moindre trace de ce corps (116). Dans leur travail sur la kola, Heckel et Schlagdenhauffen, après avoir dosé la caféine et la théobromine dans les noix, les cherchent dans les feuilles sans les trouver. D'après Dekker (17), cependant, celles-ci contiennent 0,049 % de caféine et 0,101 % de théobromine.

Dans les déterminations quantitatives les diver-

gences ne sont pas moindres : en général les chiffres donnés varient énormément d'un auteur à l'autre. Ainsi, dans les feuilles de *Coffea Arabica* que les indigènes de Sumatra et de Bornéo emploient, en guise de thé, Stenhouse a trouvé 1,5 % de caféine; Gaucher n'y trouve que 0,22 % et Rigout 0,18 %. Peckolt, au contraire, indique comme teneur en caféine de ces feuilles, 2,66 %, et Van Tomburgh et Lohmann, 1,6 % pour les feuilles jeunes, et 1,1 % pour les feuilles adultes. Dans les fleurs du thé d'Assam, Van Romburgh et Lohmann signalent la présence de la caféine dans la proportion de 0,8 %. Em. Perrot et Goris (83) y trouvent, cependant, 2,10 % de caféine. Des discordances pareilles existent également dans la détermination quantitative de la théobromine, soit dans les fèves de cacao, soit dans les noix de kola. Dans la variété de cacao de la Trinité, par exemple, les teneurs en théobromine indiquées par les différents auteurs sont les suivantes : 0,4 %, Tipperer; 0,85 %, Ridenour; 0,91 %, Winton; 1,05 %, Easts and Terry; 1,44 %, Maupy, etc., etc. (114). Ces exemples qu'on pourrait, d'ailleurs, multiplier, sont assez significatifs.

On a couramment la tendance à attribuer ces discordances aux divers procédés analytiques employés, au lieu d'y voir une preuve des variations biologiques normales que subissent les végétaux. Un seul individu, pris au hasard et analysé, est ordinairement présenté comme un type fixe de tout un groupe, sans qu'on le soumette à aucun examen comparatif, selon

le degré de développement, le mode de nutrition, les conditions extérieures d'existence, etc., etc. Une telle manière de procéder détermine, naturellement, entre les différents chercheurs, des divergences inévitables, par la diversité des types qu'ils ont pris.

A nos yeux, ces discordances sont principalement d'origine physiologique, et toute idée de nombres précis et invariables nous paraît ici aussi déplacée que dans n'importe quel autre genre de considérations biologiques. Au lieu de chercher à établir pour les diverses espèces de plantes à caféine, par exemple, un coefficient constant correspondant à leur teneur en bases xanthiques, ce qui nous paraît intéressant, c'est de déterminer dans chacune d'elles les oscillations normales de ces bases, et de les représenter par une courbe en fonction de l'âge des organes qui les renferment. Ces courbes traduiront alors la teneur réelle de chaque espèce en alcaloïdes, et permettront enfin des rapprochements et des déductions solidement fondés.

Le défaut d'homogénéité et de précision des données actuelles sur la distribution des bases xanthiques dans les divers organes des plantes à caféine, rend impossible une étude d'ensemble de cette question. Nous essayerons, toutefois, de réunir dans un tableau les renseignements qui se trouvent éparpillés sur ce sujet. On pourra ainsi se rendre mieux compte des résultats déjà acquis et des lacunes qui subsistent encore. A titre indicatif nous ferons également mention des teneurs fournies par la littérature (page 108).

Dans les *Coffea*, aussi bien que dans le *Thea*, l'*Ilex* et *Paullinia Cupana*, les recherches de Clautriau, de Van Romburgh, de Lohmann, et de Weevers, ont montré que la caféine se forme dès le début de la germination, soit qu'elle préexiste dans les semences (*Coffea*; *Paullinia*), soit qu'elle n'y existe pas (*Thea*). Elle ne disparaît plus, et sa proportion ne cesse d'augmenter, au cours du développement de la plantule et de la jeune plante. On la retrouve toujours en proportion plus considérable dans les parties de la plante où se manifeste une grande activité cellulaire, c'est-à-dire à l'extrémité de tous les jeunes rameaux en voie de croissance. Dans certains cas (*Coffea-Liberia*), l'alcaloïde n'existe que dans les organes jeunes; dans d'autres, Thé, Café d'Arabie, *Paullinia*, les organes adultes conservent de la caféine, laquelle disparaît enfin avec le vieillissement. Les variations de la théobromine n'ont jamais été étudiées.

En 1901, Gab. Bertrand (6) a signalé un fait des plus curieux relatif à la distribution de la caféine dans le règne végétal. Tandis qu'on la trouve couramment dans des genres très divers, comme *Theobroma*, *Cola*, *Camellia*, *Paullinia*, etc., il y a des espèces de *Coffea* qui ne la renferment pas. Cette anomalie, observée d'abord par G. Bertrand dans *C. Humblotiana*, *C. Mogeneti*, *C. Bonnierii* et *C. Gallieni* (7), a été depuis retrouvée dans d'autres genres. *Theobroma Grandiflorum* Schm. par exemple, est une espèce de cacao sans caféine. Elle est d'ailleurs la seule exception du genre.

Plusieurs facteurs extérieurs peuvent modifier la teneur en caféine d'un végétal. Parmi ceux-ci le mieux étudié est l'obscurité, qui produit toujours une augmentation de la caféine. A la lumière, mais en l'absence de CO_2 , le même phénomène est observé. A une augmentation de caféine correspond toujours, d'après Weevers, une diminution de matières protéïdiques, et réciproquement, à une diminution de l'alcaloïde, correspond une augmentation de matières protéïdiques. D'où cet auteur conclut : 1°) que la caféine se forme au cours de la protéolyse, comme un produit secondaire du dédoublement des matières protéïdiques; 2°) que la caféine peut être reprise dans le cycle vital pour la synthèse des protéïdes (116).

Des expériences d'annélation ont été aussi faites par différents auteurs. Dans ces conditions, une diminution notable de caféine a été toujours observée (15).

Tels sont les principaux faits qui nous paraissent suffisamment établis, dans l'état actuel de nos connaissances, sur la caféine dans les plantes.

On voit ainsi que toute conclusion sur le rôle physiologique de la caféine et de la théobromine dans les végétaux est encore prématurée. De nombreuses recherches statiques et dynamiques restent à faire avant qu'une théorie vraiment positive puisse être émise à ce sujet. Autrement on ne fera que multiplier des hypothèses sans base, plus ou moins imbues de cet esprit *finaliste* qui cherche partout le *pourquoi* sans connaître le *comment*.

Répartition des bases xanthiques dans les plantes à caféine

	P. Cupana		Théobroma Cacao		Cola Acuminata		Colica Arabica	Thea Sinensis	I. Paraguarensis	Yocoo
	Caféine	Théobromine	Caféine	Théobromine	Caféine	Théobromine	Caféine	Caféine	Caféine	Caféine
Graines. { Tégument. Amandes..	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
	2,29	nihil	0,30	2,64;2,08	2,71;2,13	0,08;0,02	0,13	0,6		
Fleurs.....	4,40	nihil	0,33	1,66;0,99			4,30	nihil		
	traces	1,54					1,0	2,10		
Feuilles.....	0,38	1,20			0,049	0,101	1,10	3,4;1 5	2,30;0,67	
Tiges... { Ecorce... Bois....	0,17	0,98					0,60	0,5	1,09	2,0
	0,19	nihil							0,57	0,54
Racine.. { Ecorce... Bois....	1,74	nihil						traces	1,11	
	0,27	nihil							0,39	

CONCLUSIONS

Il résulte de l'ensemble de nos recherches les conclusions suivantes :

1°) La teneur en caféine de la pâte de guarana est, en moyenne, de 4,8 %, pour le produit indigène, et de 4,2 %, pour le produit industriel. Les oscillations sont, dans l'un comme dans l'autre cas, assez petites.

2°) La moindre proportion de caféine dans la pâte industrielle provient de l'addition d'un peu d'amidon.

3°) Aucun autre alcaloïde ne se trouve dans la pâte de guarana.

4°) La base analogue à la morphine que Schär et Thoms ont cru déceler dans cette drogue n'y existe pas. Ces auteurs ont été induits en erreur par des réactions phénoliques analogues à celles de la morphine, mais en réalité provenant des tannins du guarana.

5°) La *B-guaranine*, que Nierenstein a cru découvrir dans la pâte de guarana, et à laquelle il a attribué

la formule $C^{40}H^{47}O^{21}N^4$, n'a pas d'individualité chimique : c'est une substance inexistante.

6°) Tous les organes adultes de *P. Cupana* que nous avons examinés renferment de la caféine. Nous l'avons dosée dans les graines (tégument et amande); les fleurs; les feuilles; les tiges (écorce et bois) et les racines (écorce et bois).

7°) La théobromine se trouve dans certains organes adultes de *P. Cupana*, à côté de la caféine. Nous l'avons identifiée et dosée dans les fleurs, les feuilles et l'écorce de la tige. Les autres parties de la plante n'en ont pas fourni. Les différents échantillons de *P. Cupana* que nous avons examinés ne renferment aucun autre alcaloïde.

8°) Les divers « points de fusion » de la théobromine que l'on trouve consignés dans la littérature scientifique sont inexacts. Son point de fusion vrai, mesuré au bloc Maquenne, est 357-358°.

9°) Tous les organes de *P. Cupana* fournissent du « rouge de guarana » aux dépens d'une substance mère incolore. A côté de la matière colorante rouge il y a aussi formation d'une matière brune. L'une et l'autre présentent de grandes analogies avec les produits colorés de la noix de kola et des fèves de cacao. Nous poursuivons l'étude de ces matières colorantes dans le but d'établir si elles proviennent réellement, comme on suppose, d'un glucoside xanthique préexistant dans la plante.

10°) *Paullinia Cupana* est jusqu'ici l'espèce végétale connue la plus riche en caféine et en théobro-

mine. Comme suite à ces premières recherches nous nous proposons de déterminer la courbe de variation de ces deux bases au cours du développement de la plante, afin que d'autres conclusions d'ordre physiologique puissent être tirées.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) ADAM, HARDY and NIERENSTEIN. — The cathechin of the Cacao Bean. (*The Journ. of the Am. Chem. Soc.*, Vol. 53, n° 2, p. 527. 1931.)
- 2) ATTFIELD. — On the food value of the Kola-nut. A new source of theine. (*Pharm. Journ.*, Vol. VI, p. 457.)
- 3) BEHRENS. — *Anleitung zur mikrochemischen Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen*, 1897, t. IV, p. 14.
- 4) BERTRAND (G.). — Recherche et dosage de la caféine dans plusieurs espèces de café. (*Bull. Sc. Pharm.*, t. V, p. 283-285. 1898.)
- 5) — L'acide silicotungstique comme réactif des alcaloïdes. (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXVIII, p. 742-745. 1899.)
- 6) — Sur la composition chimique du café de la Grande Comore. (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXXII, p. 162-164. 1904. *B. Soc. Chim.*, 3° série, t. XXV, p. 226 et p. 379-381. 1901.)
- 7) — Sur les cafés sans caféine. (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXLI, p. 209-211. 1905. *Bull. Sc. Pharm.*, t. XII, p. 152-153. 1905.)
- 8) BERTRAND (G.) et DEWUYST (T.). — La composition

- du maté du Brésil et de l'infusion du maté. (*Bull. Sc. Pharm.*, t. XVII, p. 249-253. 1910.)
- 9) BERTRAND (G.) et THOMAS (P.). — *Guide des manipulations de Chimie biologique.*
- 10) BERTHEMOT et DESCHASTELUS. — Nouvel examen chimique du Guarana. (*Journ. de Pharm.*, 2 sér., t. 26, p. 518. 1840.)
- 11) BOCHEFONTAINE et GOSSET. — *Year Book of Pharm.*, 1886, p. 195.
- 12) BRUGNATELLI. — *Giornale di Fisica, Chimica, etc.*, t. II, p. 38 et 117.
- 13) CADET (C. L.). — *Journ. de Pharm.*, 2^e série, t. 3, p. 258. 1817.)
- 14) CARLES. — Pharmacologie des Kolas. (*Bull. Soc. Pharm.*, Bordeaux, XXV, p. 193-212. 1896.)
- 15) CLAUTRIAU. — *Nature et signification des alcaloïdes végétaux* (1900).
- 16) DANIELL. — On the Kola-nut of Tropical West Africa. (*Pharm. Journ.*, 1865, Vol. VI, p. 450.)
- 17) DEKKER. — Untersuchung der Blätter von *Theobroma Cacao* und *Sterculia Cola* auf darin enthaltene xanthinbasen. (*Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, 1902, XL, p. 659.)
- 18) DIETERICH. — Ueber die Bestandtheile des frischen, getrockneten und gebrannten Kolanuss. (*Pharm. Centrall.*, 1896, XXXVII, p. 544.)
- 19) DRAGENDORFF. — *Pharm. Zeits. f. Russland*, t. V, p. 85, et t. VI, p. 633. *Beit. f. gericht. Chemie*, p. 282.)
- 20) DUMAS et PELLETIER. — Recherches sur la composition élémentaire et sur quelques propriétés caractéristiques des bases salifiables organiques. (*Ann. de Chim. et Phys.*, 1824, t. XXIV, p. 163.)
- 21) ERDMANN et USLAR. — *Ann. de chem. u. Pharm.*, t. CXX, p. 121 et 360.

- 37) — Guarana-tannic acid. (*The Journ. of the Chem. Soc.*, 1877, II, p. 897.)
- 38) GUIMARAES (Francisco). — *Annuaire du Brésil*. Paris, 1928.
- 39) HANAUSEK. — Zur histochemischen Caffeinreaktion. (*Zeits. D. Allg. Oest. Apotheke. Vereins*, 1891, p. 606.)
- 40) HECKEL et SCHLAGDENHAUFFEN. — Des Kolas Africains. (*Journal Pharm. et Chim.*, 5^e série, p. 556-568.)
- 41) — *Journ. Pharm. et Chim.*, 5^e série, VIII, p. 81-96.
- 42) — *Journ. Pharm. et Chim.*, 5^e série, VIII, p. 177-208.
- 43) — *Journ. Pharm. et Chim.*, 5^e série, VIII, p. 289-306.
- 44) HERZIG et HANS MEYER. — *Monatshefte für Chemie*, XV, p. 613. 1894.
- 45) — *Monatshefte für Chemie*, XVI, p. 599. 1895.
- 46) — *Monatshefte für Chemie*, XVIII, p. 379. 1897.
- 47) HILGER. — *Pharm. Zeit.* 38, p. 511.
- 48) HUMBOLDT et BONPLAND. — *Nov. Gen. et Sp.*, t. V, p. 91, 1821.
- 49) HUMPHREY (John). — *Mat. Med. and Pharmacy*, London, 1907, p. 208.
- 50) JOBST. — *Annalen der Pharm.*, t. 42, p. 63-66.
- 51) KIRMSSE. — Extraction of tannin and Catechin from guarana-paste and percentage of caffeine. (*The Journ. of the Chem. Soc., Abstr.*, 1898, p. 535.
- 52) — *Arch. Phar.* 1898, t. 236, p. 122-141.
- 53) KNEBEL. — Die Bestandtheile der Kolanuss. *Inau. Diss., Erlangen*, 1892.)
- 54) — Zur Chemischen Kenntniss der Kolanuss. (*Apoth. Zeit.* 1892, VII, p. 112.)

- 55) KNOX and PRESCOTT. — The coffein compound of Kola. (*Pharm. Rev.*, 1897, XV, p. 172-176.)
- 56) — *Pharm. Rev.*, 1897, XV, 191-195.
- 57) — *Pharm. Rev.*, 1897, XV, 214-219.
- 58) — *The Journ. of the Amer. Chem. Soc.*, 1898, XIV, p. 63-90.
- 59) KOSSEL. — *Berichte*, 21, p. 2154.
- 60) KREMEL (A.). — *Pharm. Post.*, 1888, p. 101.
- 61) LAZARUS. — *Dissert. Erlangen*, 1893.
- 62) LENDRICH et NOTTBOHM. — *Zeit. f. Nahr. u. gensen*, t. 5, p. 241. 1909.
- 63) LIEBIG et PFAFF. — *Lieb. Ann.*, t. I, p. 17.
- 64) LIEBIG. — *Ann. d. Chem. u. Pharm.*, t. 26, p. 241.
- 65) LOHMANN (C. E. J.). — Pesquisa do alcaloide contido no mate ou chá do Brasil. *These Escola Polytechnica do Rio de Janeiro*, 1918.
- 66) MARCET. — *An essay on the chemical history and medical treatments of calcul disorders*. London, 1817.
- 67) MARTIUS (C. F. P.). — *Systema Materiae Medicae Vegetabilis Brasiliensis*, 1843, p. 59.
- 68) — *Flora Brasiliensis*, Vol. XIII, Pars III, p. 372.
- 69) MARTIUS (Th.). — Das Guaranin; ein neuer Pflanzenbildungstheil. (*Arch. f. d. ges. Naturl. Nürnberg*, VII, p. 266. 1826.)
- 70) — *Buchner's Repert. d. Pharm.*, XXXI, p. 370. 1829.
- 71) — *Ann. d. Chem. u. Pharm.*, t. 36, p. 93. 1840.
- 72) MEDICUS. — *Lieb. Ann. d. Chem.*, t. 175, p. 243. 1875.
- 73) MENEZES-CARDOZO (J. A.). — O guaraná. (*Revista da Associação Commercial do Amazonas*, Anno XVIII, n° 157.)
- 74) MICHIELS et DENIS. — Sur la liane Yocoo, drogue à caféine du genre Paullinia. (*Bull. de l'Ac. R.*

- de Méd. de Belgique, 5^e série, t. VI, n^o 6, p. 424. 1926.)
- 75) MOLISCH. — *Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen genussmittel*. Iena, 1891.
- 76) NIERENSTEIN (M.). — Some of the chemical constituents of guarana. (*Annals of Tropical Medicine and Parasitology*; University of Liverpool, séries T. M. Vol. IV, n^o 1, p. 115.)
- 77) — Paullinia tannin. (*Journ. of the Chem. Soc.*, 1922, Vol. XVI, part. I, p. 23.)
- 78) OERSTED. — Zur Beleuchtung der Blumen des brasilianischen Theestranches (Neea Theifera). (*Bot. Zeit.* 1869, p. 216.)
- 79) OUDRY. — *Mag. f. Pharm.*, t. 19, p. 49.
- 80) PECKOLT (Th.). — Guarana oder Uarana. (*Sitz. Ber. d. Kais. Akad. Zu Wien*, 1866, LIV, p. 462.)
- 81) — Paullinia Cupana, K. (*Ber. Pharm. Ges.*, 1903, p. 339.)
- 82) PERROT (E.) et GORIS (A.). — Composition chimique des noix de kola. (*Bull. Sc. Pharm.* 1907, t. 14, p. 576.)
- 83) PERROT (E.) et GORIS (A.). — La fleur de thé. (*L'Agriculture pratique des Pays chauds*, 1907, p. 165-169.)
- 84) PROUT (W.). — *Philos. Trans. of the. R. Soc., London*, 1798, p. 15.)
- 85) ROCHLEDER. — *Ann. d. Chem. u. Ph.*, t. 71. 1849.
- 86) ROMBURGH (VAN) et LOHMANN (C. E. J.). — Onderzoekingen betreffende op Java gecultiveer de Theen. (*Verslag Omtrent den Staat Van's hands Plantentuin Te Buitenzorg*. Over Het Jaar 1896, p. 159; *idem*, 1890, p. 43.)
- 87) ROQUETTE-PINTO (E.). — Director do Museu Nacio-

- nal do Rio de Janeiro. O guaraná. (*Chacaras e Quintaes*, Vol. VIII, n° 3, p. 13.)
- 88) RUNGE (F.). — *Phytochem. Entdeckungen*, 1820, p. 144.
- 89) SALOMON. — *Zeits. f. Phys. Chem.*, t. 15, p. 319.
- 90) SALOMON et KRUGER. — *Zeits. f. Phys. Chem.*, t. 24, p. 364.
- 91) SCHÄR. — Ueber glykosid und alkaloidartige reaktionen bei gewissen relativ in differenten Droge (Herba Cardui und Pasta Guarana). (*Arch. der Pharm.*, t. 228, p. 274-280. 1890.)
- 92) SCHMIDT. — Ueber das Vorkommen von Cafein im Cacao. (*Annal. d. Chem.* 1883, t. CCXVII, p. 306.)
- 93) SCHMIDT (F.). — O Guarana. (*O Campo*, n° 7, Julho de 1930, p. 74.)
- 94) SCHWEITZER. — Zur Kemtniss der Coffein und theobrominhaltigen Glykosid in dem Pflanzen. (*Pharm. Zeit.* 1898, XVIII, p. 380.)
- 95) SHIMOYANA. — *Pharmakognosie der Pflanzenreiches*, p. 657 (1883).
- 96) SQUIBB. — *Peckolt, loc. cit.* (81).
- 97) STAS-OTTO. — *Annal. d. Chem. u. Pharm.*, t. LXXXIV, p. 379.
- 98) — *Annal. d. Chem. u. Pharm.*, t. C., p. 44.
- 99) STENHOUSE. — Ueber Thein und seine Darstellung. (*Lieb. Ann.*, 1843, t. 45, p. 336.)
- 100) — *Ann. d. Chem. u. Pharm.*, t. 46, p. 226-230.
- 101) — Determination of the amount of Theine in guarana. (*Pharm. Journ. and Trans.*, October 1856, t. 118, p. 212.)
- 102) STRECKER. — *Ann. der Chem. u. Pharm.*, t. 118, p. 170.)
- 103) — Ueber einige Reductions-producte des Allantöins und der Harnsaure. (*Annal. d. Chem. u. Pharm.*, 1864, t. 131, p. 119.)

- 104) SUZUKI. — On the localisation of the theine in the tea leaves. (*Bull. of the College of Agriculture*. Tokio, 1901, t. 4, n° 4.)
- 105) THOMS. — Semen Paullinia und Pasta Guarana. (*Pharm. Centralh*, XIII, p. 433. 1892.)
- 106) TROMMSDORFF. — *Liebig's Annalen der Chemie*, t. 18, p. 90. 1836.
- 107) TSCHIRCH et GROGG. — *Handb. der Pharmakognosie*.
- 108) TSCHIRCH et FINN KOLLE. — Ueber den Bau des Samenschale von *Paullinia Cupana*. (*Schweizerisch Apotheker Zeitung*, 1918, n° 35, p. 445-447.)
- 109) UGLOW (VON) et SCHAPIRO (A. M.). — Ein neues Verfahren zur Destimmung des Coffeins im Tee. (*Zeits. f. Unters. der Lebensmittel*, 1928, t. 55, p. 149.)
- 110) ULTEE and VAN DORSSSEN. — *The Journ. of the Am. Chem. Soc.*, Vol. 53, n° 2, p. 727. 1931.
- 111) VENABLE. — *Ilex Cassine* L. (*The Journ. of the Am. Chem. Soc.*, April 1885, p. 389.)
- 112) VIREY (J. J.). — Note sur les médicaments peu connus. (*Journ. de Pharm.*, 2^e série, t. VI, p. 190. 1820.)
- 113) WADSWORTH (R.). — The estimation of theobromine in Cocoa and its products. (*The Analyst*, t. 46, p. 32. 1921.)
- 114) — The Theobromine contents of Cacao-Beans and Cocoa. (*The Analyst*, t. 47, p. 152-153. 1922.)
- 115) WEEVERS. — Concerning the function of caffen in the metabolism of *Paullinia Cupana* (Koninklyke Akademie. Van Wetenschaffen Te Amsterdam). (*Proceedings*. Vol. XXIX, n° 8. 1926.)
- 116) — La fonction de la caféine dans le métabolisme de l'*Ilex Paraguayensis* St Hil. (Koninklyke Akademie. Van Wetenschappen Te Amsterdam). (*Proceedings*, t. 32, n° 3. 1929.)

- 117) WOHLER et LIEBIG. — *Ann. Ch. Ph.*, t. 26, p. 340.
1848.
- 118) WOSKRESSENSKY (A.). — *Lib's Annalen*, t. 41, p. 125.
1842.
- 119) ZEIZEL. — *Monatshefte für Chemie*, t. 6, p. 989
(1885); t. 7, p. 406 (1886).
- 120) ZOHLENHOFER. — Peckolt (Th.). *Loc. cit.* (81).
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	5

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE PREMIER. — <i>Paullinia cupana</i> H. B. et K.	
Origine et caractères botaniques.....	11
CHAPITRE II. — <i>La pâte de guarana :</i>	
A. — Préparation et usages.....	16
B. — Histoire chimique	18

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE PREMIER. — <i>Nouvel examen de la pâte de guarana.</i>	
Recherche et dosage de la caféine.....	33
Méthodes de dosage.....	40
Méthode employée au cours de ce travail (G. Bertrand)	44
Teneur en caféine de la pâte indigène et de la pâte industrielle	48
CHAPITRE II. — A. Recherche d'une base, analogue à la morphine, signalée par Schär et par Thoms.	
B. — Recherche de la B-guaranine de Nierenstein.	51
	53

TROISIEME PARTIE

CHAPITRE PREMIER. — *Recherches sur Paullinia cupana.*

Essais d'orientation	60
organes de <i>P. Cupana</i>	62
Séparation quantitative de la Théobromine et de la Caféine	81

CHAPITRE II. — Le « rouge de guarana »..... 87

CHAPITRE III. — Constitution chimique et histoire
 physiologique de la caféine et de la théobromine. 95

CONCLUSIONS 109

BIBLIOGRAPHIE 113

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

L'IMPORTANCE DU pH DANS LE SOL
POUR LA VÉGÉTATION

Vu et approuvé :

Paris, le 19 mai 1931.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

C. MAURAIN.

Vu

et permis d'imprimer.

Le Recteur

de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.
